

Série A
N° de Série : 220
N° d'Ordre : 244

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION SCIENCES)

PAR

M^{me} YVONNE BRANDT-BEAUZEMONT

Licenciée ès Sciences

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU ZINC CHEZ
LES ANIMAUX.

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 12 Juin 1931 devant la Commission d'examen

MM. G. BERTRAND	<i>Président</i>
P. PORTIER	} <i>Examineurs</i>
M ^{me} RAMART-LUCAS	

IMPRIMERIE "JE SERS"

—
1931

Série A
N° de Série : 220
N° d'Ordre : 244

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION SCIENCES)

PAR

M^{me} YVONNE BRANDT-BEAUZEMONT

Licenciée ès Sciences

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU ZINC CHEZ
LES ANIMAUX.

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 12 Juin 1931 devant la Commission d'examen

MM. G. BERTRAND	<i>Président</i>
P. PORTIER	} <i>Examineurs</i>
M ^{me} RAMART-LUCAS	

IMPRIMERIE "JE SERS"

—
1931

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen	C. MAURAIN, Professeur, Physique du globe.
Doyen honoraire	M. MOLLIARD.
Professeurs honoraires	H. LE CHATELIER.
	H. LEBESGUE.
	A. FERNBACH.
	A. LEDUC.
	E. HÉROUARD.
	EMILE PICARD
	E. GOURSAT
	G. KOENIGS
	P. JANET
	F. WALLERANT
Professeurs	P. PAINLEVÉ
	M. CAULLERY
	Emile BOREL
	H. ABRAHAM
	M. MOLLIARD
	E. CARTAN
	Gabriel BERTRAND
	Jean PERRIN
	L. LAPICQUE
	Mme P. CURIE
	G. URBAIN
	L. MARCHIS
	E. VESSIOT
	A. COTTON
	J. DRACH
	Charles FABRY
	R. LESPIEAU
	P. PORTIER
	Charles PÉREZ
	E. BLAISE
	P.-A. DANGEARD
	Rémy PERRIER
	Léon BERTRAND
	E. RABAUD
	G. JULIA
	Paul MONTEL
	V. AUGER
	P. WINTREBERT
	O. DUBOSQ
	Eugène BLOCH
	A. MAILHE
	L. LUTAUD
	Henri VILLAT
	Ch. JACOB
	P. PASCAL
	Léon BRILLOUIN
	E. ESCLANGON
	H. BÉNARD
	MAUGUIN
	L. BLARINCHAM
E. PÉCHARD	Chimie (Enseigt P. C. N.).
A. GUILLET	Physique.
M. GUICHARD	Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY	Pétrographie.
A. DEREIMS	Géologie.
A. DENJOY	Calcul différentiel et intégral.
H. MOUTON	Chimie physique.
A. DUFOUR	Physique (P. C. N.).
L. DUNOYER	Optique appliquée.
M. JAVILLIER	Chimie biologique.
Robert LEVY	Zoologie.
A. DEBIERNE	Radioactivité.
E. DARMOIS	Physique.
G. BRUHAT	Physique.
A. GUILLIERMOND	Botanique (P. C. N.).
F. PICARD	Zoologie (Evolution des êtres organisés)
Professeurs	L. JOLEAUD
	M. FRECHET
	M ^{re} RAMART-LUCAS
	BÉGHIN
	FOCH
	PAUTHENIER
	VILLEY
	DE BROGLIE
	LABROUSTE
	FREUNDLER
Professeurs	PRENANT
	P. JOB
	CHRÉTIEN
Secrétaire	
A. PACAUD	



A MONSIEUR LE DOCTEUR E. ROUX

Membre de l'Institut et de l'Académie de Médecine

Directeur de l'Institut Pasteur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND

Membre de l'Institut et de l'Académie d'Agriculture

Professeur à la Faculté des Sciences

Chef de Service à l'Institut Pasteur

Hommages de reconnaissance.

A MES PARENTS

A MON MARI

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU ZINC CHEZ LES ANIMAUX

INTRODUCTION

La chimie biologique, ou chimie de la matière vivante, nous permet aujourd'hui de donner de ce phénomène encore bien mystérieux qu'est la Vie, une définition un peu plus satisfaisante que celle qu'ont longtemps professée les physiologistes.

Nous dirons donc que la vie est un ensemble coordonné de phénomènes en vertu duquel les êtres d'une organisation et d'une composition complexe assimilent, se reproduisent ou perçoivent des sensations variées. (G. BERTRAND, *Cours de Chimie*).

La chimie biologique, se plaçant d'abord au point de vue statique, examine la constitution de la matière vivante et détermine objectivement, par une analyse de plus en plus perfectionnée et précise, la nature et la proportion des éléments chimiques qui la composent.

Se plaçant ensuite au point de vue dynamique, elle cherche à définir les rapports qui unissent ces constituants élémentaires, et le rôle physiologique que l'on peut attribuer à certains d'entre eux.

Il y a trente ans, BUNGE (20) connaissait treize éléments seulement dans la matière vivante; aujourd'hui, grâce à des méthodes sans cesse perfectionnées, on en a décelé plus de trente, soit le tiers des éléments connus.

Mais si la méthode analytique permet de caractériser un élément qui n'existe qu'à l'état de traces, elle ne permet pas de savoir si la quantité révélée au dosage est la quantité normale, et il est nécessaire de la compléter : c'est ce que font les méthodes synthétiques et physiologiques, plus récentes dans cette science, et qui permettent de déterminer les quantités strictement nécessaires à la vie, ainsi que le rôle de certains éléments.

C'est grâce à ces méthodes que le Professeur Gabriel BERTRAND a pu classer les éléments présents dans la matière vivante en deux grands groupes comprenant :

a) Les éléments plastiques, qui sont les constituants des tissus et qui s'y trouvent généralement en assez forte quantité;

b) Les éléments catalytiques (Mn, Zn, Ni, Fe, Cu, V, etc.) qui se trouvent en quantité très faible dans les tissus et qui interviennent seuls au point de vue dynamique.

Ces éléments catalytiques, encore appelés par G. BERTRAND infiniment petits chimiques, ou éléments oligo-synergiques, agissent comme catalyseurs des réactions essentielles de la vie.

Cette classification n'est pas absolue : il est certains éléments, comme le Calcium, le Chlore ou le Sodium, qui peuvent jouer successivement le rôle de l'une ou l'autre espèce, le Calcium présentant par exemple, selon M^{lle} ROBERT (44), des propriétés antitoxiques.

La plupart des métaux qui entrent dans la constitution de la matière vivante, ont un rôle catalytique, aujourd'hui assez bien étudié. Les recherches effectuées sur les végétaux inférieurs et supérieurs et sur les animaux, ont permis de préciser les influences de certains éléments sur des fonctions biologiques définies comme la digestion, la respiration, etc...

C'est ainsi que le Professeur Gabriel BERTRAND a défini le rôle essentiel du Manganèse dans les phénomènes d'oxydation de la laccase, et qu'il a édifié à cette occasion sa théorie si féconde des catalyseurs biochimiques, dans laquelle il précise que les actions diastatiques doivent être considérées comme résultant de l'association d'une substance organique généralement très complexe (complémentaire activante), et d'une seconde substance de fonction chimique simple, généralement en petite quantité, et ayant le rôle actif dans la combinaison (co-diastase, coferment, complémentaire active).

C'est au cours de ces recherches sur le même sujet que ce savant a déterminé l'influence de quantités infimes de Manganèse sur la croissance des plantes, constatation

qui l'a amené, en 1903, à préconiser l'emploi des éléments catalytiques comme engrais de complément.

De même, on connaît le rôle primordial du Calcium dans la digestion pancréatique; le Magnésium est un constituant vital de la chlorophylle, dans laquelle il joue un rôle comparable à celui du Fer dans l'hémoglobine du sang animal, où ce dernier sert de transporteur d'oxygène indispensable à la vie.

Ce même rôle est dévolu au Cuivre dans le sang des mollusques et des crustacés (hémocyanine), et peut-être le Manganèse (pinnaglobine) et le Vanadium ont-ils même fonction dans d'autres pigments.

Le Zinc n'a pas une importance physiologique moindre, et il entre dans la constitution intime des tissus.

C'est en 1854 que RAULIN mit en évidence l'influence favorable de traces de Zinc sur la croissance de l'*Aspergillus*; en 1908, M. JAVILLIER reprit définitivement les mêmes expériences, commença une étude analogue sur les végétaux supérieurs; puis, en 1919, DELEZENNE trouva un rapport étroit entre la teneur en Zinc des venins de serpents et leur toxicité; peu après, G. BERTRAND et VLADESCO reprirent l'étude du Zinc chez les animaux, envisagèrent son rôle dans la fonction de reproduction, et enfin G. BERTRAND et BENZON indiquèrent le rôle du Zn dans le développement général de l'individu comme facteur des échanges nutritifs.

Nous constatons donc que chacun des métaux que nous venons de citer remplit une ou plusieurs fonctions bien déterminées et présente une affinité spéciale pour un certain organe ou un certain tissu dans lequel il se trouve en quantité plus importante que dans le reste de l'organisme; c'est ainsi que le foie des animaux renferme une quantité appréciable de tous les métaux connus dans la matière vivante, et qu'en particulier le foie des mollusques, et plus spécialement des huîtres, contient une proportion relativement élevée de Zinc.

Ce métal est considéré aujourd'hui comme un élément constituant des mollusques, et il nous a semblé intéressant de reprendre l'étude de ces animaux pour tenter de déter-

miner plus exactement le rôle qui doit être assigné au Zinc, ainsi que la nature de la ou des combinaisons organiques dans lesquelles il intervient.

Avant d'exposer en détail les résultats de ces recherches, qu'il nous soit permis d'adresser ici, à notre éminent Maître, le Professeur Gabriel BERTRAND, Membre de l'Institut, l'expression de notre vive et respectueuse reconnaissance, pour les précieux conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer, et pour l'aide constante de sa longue expérience justement reconnue en ces matières, qu'il nous a apportée au cours de leur exécution, et grâce auxquels nous avons pu mener à bonne fin cette étude.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

LE ZINC DANS LES VEGETAUX

BRAUN et BELLINGRODT (1854) (1) caractérisent les premiers le Zinc dans diverses plantes calaminaires; leurs constatations sont confirmées par divers auteurs: Risse, Durand-Claye, Krausch, Yensch, Laband, Hattensauer, Fricke, Forchaumer.

Un peu plus tard, en 1877, Lechartier et Bellamy (38)) le décèlent dans les grains de blé, le maïs, l'orge, les bois de vigne, de chêne, etc...

G. BERTRAND et JAVILLIER (1908) (10) en appliquant la méthode trouvée par G. Bertrand et en la mettant au point, reprennent ces études et trouvent le Zinc dans les plantes calaminaires, dans la proportion de 0,0459 à 0,7468 gramme pour 100 grammes de matière sèche. Ils trouvent également que les conifères sont plus riches en ce métal que les angiospermes.

MOKRAGNATZ (12) analyse 78 terres arables et trouve de 4 à 87 milligrammes de Zinc par kilogramme de terre.

BIRKNER (1919) (18), par la méthode diaphanométrie, dose le Zinc dans les aliments: blé, seigle, orge, avoine, carotte, riz, maïs, son de blé, petit pois et soja. Il trouve en outre 414,86 milligrammes de Zinc par kilogramme de matière fraîche dans le levain de boulangerie.

Récemment: G. BERTRAND et BENZON (1928) (17) reprennent cette étude dans les aliments végétaux, en employant la méthode gravimétrique au Zincate de Calcium. Ils trouvent des teneurs très variables suivant les espèces

dans des proportions allant de 1 à 100; cette proportion est plus grande dans les organes riches en chlorophylle, mais ce sont les bulbes de l'ail, de l'oignon et les organes riches en eau ainsi que les graines qui fournissent les plus hautes teneurs en Zinc. L'enveloppe des graines est plus riche que la graine elle-même.

LE ZINC DANS LES ANIMAUX

RAOULT et BRETON (1874) (45) font 4 analyses de foie humain, et trouvent de 10 à 76 milligrammes de Zinc par kilogramme de matière fraîche.

LECHARTIER et BELLAMY (1877) (38) décèlent le Zinc dans le foie d'un homme, dans les œufs de poule, les muscles du bœuf.

GHIGLIATTO (1919) (23) à l'occasion de quelques expertises toxicologiques, analyse des viscères humains et trouve toujours du Zinc: de 9 à 18 milligrammes de ZnO pour 100 grammes de viscères ; il trouve également du Zinc dans les viscères de plusieurs animaux, dans un fœtus bovin et dans un fœtus humain de sept mois.

DELEZENNE (1919) (27) dit que le Zinc est un constituant normal de la cellule animale; en effet, le Zinc se trouve dans le sang des mammifères, des oiseaux, des reptiles, entre 15 et 25 milligrammes par litre; celui des batraciens et des poissons en contient un peu moins. Les globules blancs contiennent 80 % de la totalité du Zinc sanguin. Les centres nerveux, le thymus, le pancréas, le foie, les reins, sont les plus riches.

S. GIAYA (1920) (30) étudie le Zinc dans les organes humains au point de vue toxicologique. Il trouve que le Zinc est un constituant normal des viscères qu'il classe dans l'ordre : cerveau, poumon, estomac, foie, rein, intestin, cœur, rate. A côté de ce Zinc normal, il y a un apport au cours de la vie.

BODANSKY (19) fait des dosages dans 20 espèces marines et y détermine la présence constante du Zinc. En outre, il constate en analysant le Zn du cerveau que l'accumulation du Zinc est plus rapide pendant la vie utérine qu'après la naissance. Ce fait est confirmé par Mc HARGUE

(32) qui trouve une très forte proportion de Zinc dans le foie d'un veau d'une semaine.

Enfin, G. BERTRAND et VLADESCO (14), grâce à de nombreuses expériences, déterminent que les organes des oiseaux sont plus riches en Zinc que les mêmes organes des mammifères et des poissons. Le cerveau et le foie sont très riches, et atteignent, dans certaines circonstances non déterminées, des teneurs très élevées; par contre, le muscle est pauvre en Zinc. Pour le cheval, les organes et tissus renferment de 3,5 à 53 milligrammes pour 100 grammes de matière fraîche; et la teneur dans un même organe varie d'un individu à un autre. L'œuf de poule renferme environ 1 milligramme de Zinc presque totalement contenu dans le jaune.

LUTZ (1926) (39) étudie la répartition du Zinc normal chez le rat, le chat et l'homme.

LE ZINC DANS LES MOLLUSQUES

BRADLEY (1904) (21) décèle le Zinc et le Cuivre dans le foie du *Sycotypus Canaliculatus* et dans le *Fulgar Carica*. Mais il ne trouve pas de Zinc dans plusieurs espèces marines du Sud, entre autre dans l'*Ostrea Virginaria*.

MENDEL et BRADLEY (1905) (41) trouvent que seuls le foie et le sang du *Sycotypus* contiennent le Zinc et le Cuivre (1,2 milligramme de Cuivre et 0,7 de Zinc pour 100 grammes de foie sec); mais ils ne trouvent pas de Zinc dans les moules, crabes, huîtres et écrevisses.

SALE (1915) (52) trouve du Zinc et du Manganèse dans les huîtres de Chesapeake Bay.

PHILIPPS (1917) (44) analyse des espèces vivant dans des régions non contaminées et trouve constamment du Zinc, sauf dans le sang d'écrevisse. Il conclut que ce métal est un constituant normal des espèces.

HILTNER et WICHMANN (1919) (35) constatent la présence du Zinc dans toutes les huîtres de l'Atlantique, mais ne trouvent pas de relation directe entre la quantité de Zinc et le poids du corps des huîtres, ni entre les teneurs en Zinc et en Cuivre; il n'existe pas non plus de corrélation entre la quantité de Zinc contenue dans les huîtres et celle que contient l'eau dans laquelle elles vivent.

DELEZENNE (1919) (27) trouve que les organes de mollusques ont une teneur en Zinc beaucoup plus élevée que les mêmes organes des vertébrés.

BODANSKY (19) dose le Zinc dans 20 espèces marines où il le trouve constamment. Analysant séparément les divers organes des huîtres, il trouve que les muscles sont plus pauvres que les organes de digestion, les manteaux et les branchies, où le Zinc est distribué à peu près uniformément.

SEVERY (1923) (53) ne trouve pas de Zinc dans la coquille des moules ni dans la coquille interne du *Cryptochiton*, dont par contre le manteau est très riche; de même les huîtres de Californie contiennent jusqu'à 99 milligrammes de Zinc par 100 grammes de matière fraîche.

G. BERTRAND et VLADESCO (17) dosent le Zinc dans de nombreux mollusques chez lesquels ils en trouvent constamment, en proportion très variable d'une espèce à une autre et même d'un individu à un autre dans la même espèce. Les huîtres, et surtout les gryphées, sont particulièrement riches; les organes musculaires sont les plus pauvres, la bosse de Polichinelle du *Pecten Jacobæus* est très riche.

WANG TAI SI (1928) (59) confirme les travaux de DELEZENNE, BERTRAND et VLADESCO. Il dose dans 35 espèces de mollusques, de 0,93 à 50,66 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche. Il constate que les lamellibranches sont plus riches que les céphalopodes et les gastéropodes.

ROLE DU ZINC CHEZ LES VEGETAUX

Le premier, RAULIN (1870) (46) prévoit que parmi les éléments nécessaires à la végétation, il faut ranger le Zinc.

JAVILLIER (10) trouve que des traces de Zinc (1/50.000.000) augmentent beaucoup le développement de l'*Aspergillus niger*; il obtient le même résultat avec la levure, mais il détermine que celle-ci réagit moins au Zinc que l'*Aspergillus*. De même, le Zinc est indispensable au développement des plantes supérieures (blé):

l'augmentation de croissance porte surtout sur la tige et les feuilles; le blé ne peut fixer plus de 1/100.000 de son poids sec sans dommage.

MAZE (1914) (40) arrive aux mêmes conclusions en expérimentant sur le maïs.

Récemment Mc HARGUE (1925) (33) confirme que l'on peut raisonnablement assumer un rôle aux complexes organiques colloïdaux des métaux tels que le Cuivre, le Manganèse, le Zinc, le Nickel, le Cobalt, dans les processus métaboliques des plantes et des animaux.

Enfin, Von MAX ROBERG (1928) (47) et Anna L. SOMMER (54) confirment aussi l'influence du Zinc, le premier sur la croissance de l'*Aspergillus*, la seconde sur celle des plantes supérieures.

ROLE DU ZINC CHEZ LES ANIMAUX

De nombreux auteurs ont cherché à mettre en évidence que le Zinc était un facteur du métabolisme animal.

GHIGLIATTO (1918) (23) le premier, pense que la quantité de Zinc varie suivant les individus, l'âge et les viscères, et que ce métal peut avoir une importance physiologique.

DELEZENNE (1919) (27) par une étude sur les venins de serpents trouve un rapport de subordination entre certaines activités catalytiques des venins et la présence du Zinc, et il pense que dans la cellule animale, où la présence de ce métal est constante, il intervient dans les processus catalytiques que le métabolisme intra-cellulaire utilise.

G. BERTRAND et VLADESCO (14) trouvent que la teneur en Zinc du corps varie avec l'âge: maxima dans le jeune âge, elle décroît pendant la période de lactation, puis augmente rapidement à partir du sevrage (5). Ils trouvent, dans le cheval, que les testicules, les glandes mammaires et les ganglions lymphatiques sont particulièrement riches en Zinc (15); cependant la proportion n'est pas constante. C'est en étudiant les mêmes organes chez le hareng, qu'ils ont pu rattacher la variation de leur teneur en Zinc, à la

périodicité de leur fonctionnement physiologique. Ils concluent que le Zinc doit jouer un rôle dans la fonction de reproduction, et en raison de sa mobilité, sans doute aussi dans les processus de régulation et de sécrétion internes.

CRISTOL (1922) (24) étudie les tissus cancéreux; ses résultats semblent montrer que la teneur élevée en Zinc de ces tissus est fonction de la prolifération et de l'activité cellulaire et nucléaire.

G. BERTRAND et BENZON (1922) (7) font des expériences d'alimentation synthétique sur la souris: le Zinc s'y est comporté comme un élément de grande importance physiologique: les animaux qui ont trouvé du Zinc dans leur alimentation ont vécu plus longtemps que ceux qui en ont été privés. L'influence du métal fut telle que 0,15 à 0,3 milligramme ingéré pendant la durée totale de l'expérience suffit à prolonger cette durée de 25 à 50 %.

Mc HARGUE (1926) (33) confirme ces résultats en expérimentant sur des rats.

FAIRHALL (1926) (29) trouve que l'utilisation du Zinc par le rat est d'environ 1 % et la quantité circulant dans le sang est les 7 % de celle du Calcium.

R. B. HUBBELL et MENDEL (1927) (36) confirment les expériences de G. BERTRAND et BENZON, en expérimentant sur des souris et ils indiquent que le Zinc en petite quantité produit une augmentation de la croissance; ils suggèrent l'idée que la valeur nutritive du Zinc peut être due non seulement à ce métal, mais aussi à ses mélanges avec d'autres métaux présents en petite quantité dans le régime.

F. HAUROWITZ et H. TURNWALD (1930) (34) trouvent qu'il n'existe aucune relation entre la teneur en Fer, Cuivre, Zinc, Etain, Manganèse dans le foie, et sa richesse en estérase ou en catalase.

DERRIEN et CRISTOL (1930) (26) constatent que dans les porphyries aiguës, il existe des crises de porphyrurie entraînant de la zincurie, et suggèrent la possibilité de traiter les malades par le Zinc.

ROLE DU ZINC CHEZ LES MOLLUSQUES

MENDEL et BRADLEY (41) pensent que le Zinc du foie et du sang du *Sycotypus* est sans aucun doute combiné avec une protéine, comme le Cuivre dans l'Hémocyanine, et suggèrent le nom de *Hémosycotypine* pour le composé.

HILTNER et WICHMANN (35) proposent de substituer à hémosycotypine un terme plus général, qui serait par exemple hémozincine, ceci devant les résultats du laboratoire de New-York et celui de Denver, qui trouvent le Zinc et le Cuivre dans la liqueur extraite des huîtres.

BODANSKY (19), en soumettant des huîtres finement broyées à la dialyse, retrouve 49,5 % de Zinc dans le dialysat.

SEVERY (53) suppose que la fonction du Zinc peut être présentée comme une aide dans l'action enzymique.

Enfin, C. BERTRAND et VLADESCO (15) pensent que la variation de la teneur en Zinc est probablement due en partie à des causes analogues à celles des vertébrés (influence de l'âge, etc...). Ils pensent aussi que le Zinc joue un rôle dans la reproduction, car, dans le *Pecten Jacobæus*, la bosse de Polichinelle, organe qui abrite les glandes génitales, contient 4 à 5 fois plus de métal que les autres parties du corps.

WANG TAI SI (1928) (59) étudie les différentes protéides du sang des moules; il y trouve 39,6 % de Zinc dialysable, et pense qu'en raison de la pluralité des protéides, on peut supposer que tel ou tel protéide a une affinité spéciale pour un métal quelconque, ou pour certains métaux bien déterminés.

CHAPITRE II

METHODE ET ORIENTATION DE NOS RECHERCHES PERSONNELLES

Les travaux des divers auteurs que nous venons de citer dans le chapitre précédent, mettent en évidence l'existence indiscutable du Zinc chez les animaux comme chez les végétaux; en ce qui concerne le rôle physiologique de ce métal de nombreuses conclusions sont basées sur des faits expérimentaux, mais certaines ne sont encore qu'hypothétiques.

C'est pourquoi, sous la direction de notre éminent Maître, le Professeur Gabriel BERTRAND, nous avons repris l'étude du Zinc organique.

Comme on peut s'en rendre compte en examinant un tableau indiquant la teneur en Zinc des différents animaux, les mollusques, et principalement les gryphées, sont très riches en ce métal, et il est supposable que le Zinc joue un rôle spécial chez ces animaux.

Deux questions se posent : Quel est ce rôle ? Dans quelles combinaisons organiques le Zinc est-il engagé ?

Il peut s'agir d'une ou de plusieurs combinaisons analogues à celles que l'on connaît déjà pour le Fer, le Cuivre, le Manganèse ou le Vanadium, et ayant un rôle dans la fonction respiratoire; ou, au contraire et plus vraisemblablement, car le Zinc ne présente, à notre connaissance qu'un seul degré d'oxydation, de combinaisons organiques d'un autre ordre et ayant un tout autre rôle.

Notre étude a visé à répondre à ces deux questions en ce qui concerne les mollusques et en particulier les gryphées, en raison de leur richesse exceptionnelle en Zinc.

Pour chacun des spécimens étudiés, nous avons procédé au dosage et à la détermination de la teneur en cet élément rapportée: 1° au poids de matière fraîche; 2° au poids de matière sèche.

Par matière fraîche, nous entendons le mollusque débarrassé de sa coquille et de son eau d'imprégnation: la matière sèche résulte d'une dessiccation à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

La destruction de la matière organique, en vue du dosage peut se faire soit par la voie sèche, soit par la voie humide. Nous avons tout d'abord procédé à des dosages comparatifs du Zinc dans les liqueurs obtenues par l'une et l'autre méthode, à partir de foie de veau, de moules et d'huîtres.

Les résultats de ces dosages comparatifs sont figurés dans le tableau ci-dessous:

NATURE DE LA SUBSTANCE ANALYSÉE	ZINC EN mgr. POUR 100 gr. DE			
	MATIÈRE FRAÎCHE		MATIÈRE SÈCHE	
	V. humide	V. sèche	V. humide	V. sèche
Foie de veau	7,78	7,62	28,13	27,62
Moules	3,6	3,2	300	266
Poudre d'huître...			480	470

On constate un petit avantage en faveur de la méthode par voie humide, qui, en outre, si elle demande un temps relativement long, est plus facile à employer.

L'obtention des cendres (voie sèche) demande en effet certaines précautions en raison de la volatilité de l'oxyde de Zinc, et nous employions le mode opératoire suivant :

La matière sèche est d'abord mise au four à moufle, dans une capsule tarée, et la température est maintenue aussi basse que possible, juste suffisante pour faire charbonner toute la matière qui est ensuite lavée à l'eau bouillante de façon à dissoudre tous les sels métalliques solubles; le résidu est remis au four pour être calciné jusqu'à obtention de cendres blanches (les cendres sont parfois légèrement jaunâtres quand il y a une teneur élevée en fer). On ajoute alors l'eau de lavage à ces cendres, on évapore au bain-marie, puis on sèche à l'étuve: on a ainsi les cendres totales.

Pour l'attaque sulfo-nitrique (voie humide) la matière fraîche est mise dans un ballon kjehldahl avec de l'acide sulfurique concentré. On chauffe très doucement pour éviter la formation de mousse jusqu'à élimination complète de l'eau; on ajoute alors l'acide nitrique goutte à goutte, en continuant à chauffer; on procède à de nouvelles additions d'acide nitrique, chaque fois qu'apparaissent dans le ballon les vapeurs blanches d'acide sulfurique. La destruction est terminée lorsque le liquide est incolore à froid (il garde parfois une coloration jaune facilement reconnaissable dans le cas d'une teneur élevée en fer). On évapore jusqu'à siccité dans une capsule de porcelaine en évitant soigneusement toutes projections. On obtient un résidu incolore ou jaunâtre.

La suite des opérations devient identique pour les deux méthodes, et l'on traite le résidu sulfo-nitrique ou les cendres par l'acide chlorhydrique concentré pour insolubiliser la silice, puis, après une dessiccation au bain-marie, on reprend par l'acide chlorhydrique au 1/10°, à chaud, ce qui donne la liqueur nécessaire pour faire le dosage.

Nous avons employé pour ce dernier la méthode de G. BERTRAND et JAVILLIER, appelée encore méthode au zincate de Calcium, perfectionnée depuis en procédant suivant le mode opératoire indiqué par G. BERTRAND et VLADESCO, G. BERTRAND et MOKRAGNATZ et par G. BERTRAND et BENZON (12) (7).

Tous les produits chimiques que nous avons utilisés au cours de nos manipulations ont été préalablement purifiés spécialement en vue d'éliminer toute trace de Zinc; les acides sulfuriques et nitriques, en particulier, par distillation dans le vide dans un appareil en verre; la chaux a été obtenue par calcination du nitrate de Calcium.

CHAPITRE III

RECHERCHES EXPERIMENTALES SYNTHETIQUES

Au cours de la première partie de nos recherches, nous avons été amenés à prendre des gryphées de provenances inconnues, dans divers moments de l'année; chaque fois nous avons fait le dosage du Zinc dans la matière fraîche, et également dans la matière sèche pour certains lots; nous avons trouvé les résultats qui figurent dans le tableau suivant :

DATE	EAU %	ZINC EN mgr. POUR 100 gr. DE	
		MAT. FRAICHE	MATIÈRE SÈCHE
10 novembre 1927..	84,55	32,78	212,16
27 décembre 1927..	84,66	42,36	275,78
Février 1928.....		67,92	
4 mars 1928		44,96	
27 avril 1928		64,10	
25 février 1929	82,93	68,10	398,40
28 mars 1929	90,20	36,24	369,80
25 avril 1929	85,61	49,50	366,66

Nous constatons de notables différences entre les teneurs en Zinc des gryphées analysées à ces époques variées de presque trois années consécutives, la variation allant du simple au double si l'on considère la teneur rapportée à la matière fraîche; malheureusement les mesures sont trop peu nombreuses pour permettre de conclure avec certitude.

Il semble cependant que les minima correspondent aux périodes qui suivent immédiatement celles de la reproduction; nous avons déjà rappelé l'hypothèse formulée dans cet ordre d'idée par G. BERTRAND et VLADESCO (15) qui avaient émis l'idée que le Zinc devait jouer un rôle dans la phase de la reproduction; cette hypothèse se confirmerait si notre supposition est fondée en ce qui concerne les minima de la teneur en Zinc des gryphées analysées.

Il nous a paru nécessaire, à la suite de cette première constatation, et afin de préciser davantage les conditions de nos recherches, de reprendre ce travail comparatif sur des gryphées de provenance bien définie, de façon à éliminer de la sorte les influences incontrôlables des variations de milieu, des nourritures différentes, et des eaux plus ou moins contaminées de façons très diverses.

A cet effet, grâce à l'amabilité de l'Office scientifique et technique des Pêches maritimes, nous nous sommes fait adresser régulièrement tous les quinze jours, pendant une année entière, des gryphées venant d'un parc situé dans la Charente-Inférieure, à la Tremblade, et nous avons analysé chaque envoi avec le plus grand soin. Les résultats de ces nombreuses analyses sont reproduits dans le tableau de la page ci-contre.

DATE	EAU %	POIDS DE MAT. FRAICHE ANALYSÉE	ZINC EN mgr. POUR 100 gr. DE	
			mat. fraîche	matière sèche
12 juin 1929..	82,79		42,50	246,4
26 juin 1929..	89,96	13,87	33,93	337,98
10 sept. 1929..	86,65	20,39	66,57	498,65
26 sept. 1929..	84,04	19,14	36,2	226,51
2 oct. 1929..	89,35	18,56	44,73	419,84
16 oct. 1929..	88,25	21,63	32,4	276
30 oct. 1929..	85,32	30	59,4	404,78
14 nov. 1929..	82,8	22,76	24,03	139,77
21 nov. 1929..	89,22	17,42	36,51	338,60
14 déc. 1929..	89,98	19,37	63,37	633,41
19 déc. 1929..	87,56	15	36,21	211,21
3 janv. 1930..	89,25	21	45,36	422,18
15 janv. 1930..	87,46	14,3	152,23	1.213,9
29 janv. 1930..	83,57	18,16	31,014	188,82
13 fév. 1930..	91,87	17,91	27,59	339,5
27 fév. 1930..	84,96	20,48	31,655	210,47
14 mars 1930..	91,51	15,73	39,92	470,20
27 mars 1930..	89,43	14,	39,96	378,05
10 avril 1930..	87,34	8,04	32,75	288,68
27 avril 1930..	86,39	14,03	60,65	
5 mai 1930..	89,57	9,72	41,68	399,61
22 mai 1930..	93,76	14,17	46,89	751,6
16 juin 1930..	90,47	13,006	51,093	
15 janv. 1930..		21,9	87,40	696,96
29 janv. 1930..		16,8	46,62	288,44
13 fév. 1930..		23,65	23,04	283,5
27 fév. 1930..		16,56	49,675	330,32
14 mars 1930..		21,54	36,01	424,14
27 mars 1930..		18,56	86,23	815,78
10 avril 1930..		13	30,55	241,31
27 avril 1930..		11	29,27	215,06
5 mai 1930..		15,19	28,54	273,63
22 mai 1930..		13,66	30,26	485,07

Contrairement à notre attente, nulle conclusion nette ne se dégage de ce travail, et la teneur en Zinc varie d'une façon tout à fait discontinue, sans présenter aucun caractère de périodicité bien marqué.

Nous avons cru remarquer, toutefois, d'après l'apparence de certaines gryphées analysées, une certaine liaison entre la teneur en glycogène et celle en Zinc, et, afin de vérifier ce point, nous avons analysé un certain nombre d'envois en y dosant à la fois le Zinc et le glycogène, en employant pour ce dernier la méthode classique de PFLUGER (39) dont nous rappelons le principe, d'après la description qu'en donne le « Guide des manipulations de Chimie Biologique », de G. BERTRAND et THOMAS :

« On broie le corps du mollusque; on prend, par exemple, 30 grammes de la pulpe obtenue que l'on chauffe avec un poids égal de lessive de potasse très concentrée (faite avec 60 grammes de potasse en plaque et 40 cc. d'eau) dans une petite capsule de porcelaine jusqu'à dissolution totale du tissu (45 minutes à une heure). Pendant ce chauffage, on remplace au fur et à mesure l'eau qui s'évapore. On ajoute ensuite 50 cc. d'eau et on filtre sur un tampon d'amiante, en repassant sur le filtre les premières parties du filtrat. On ajoute à 50 cc. du filtrat 25 cc. d'alcool à 95° (soit 1/2 volume). Le précipité blanc jaunâtre de glycogène se rassemble; on décante sur un petit filtre sans pli le liquide surnageant, on lave le précipité avec 10 à 15 cc. d'alcool au 1/3, et on le jette sur le filtre; celui-ci est bien égoutté et essoré entre des doubles de papier à filtrer. Lorsque l'on veut purifier le glycogène ainsi obtenu, on le redissout dans le plus petit volume possible d'eau chaude (à 50-60°), on refroidit et on ajoute pour 100 cc. de solution, 10 grammes de KI cristallisé et 5 cc. de lessive de potasse à 60 %. Après avoir mélangé, on précipite le glycogène par addition de 50 cc. d'alcool à 96°. Le précipité est essoré, lavé avec un mélange de 50 cc. d'alcool, 100 cc. d'eau, 5 cc. de lessive de potasse à 60 % et 10 gr. de KI, puis essoré complètement. On le redissout dans l'eau, on neutralise par $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, on reprécipite par l'alcool, puis on essore. On lave successivement à l'alcool à 60°, 75°, 90°, et on finit

« par un lavage à l'alcool à 96°. On fait sécher la poudre
« blanche dans le dessiccateur à SO_4H_2 à la température
« ordinaire et on pèse.

« Il est encore préférable de doser le glycogène comme
« l'amidon, en faisant une saccharification avec HCl au
« $1/20^\circ$ et en déterminant la quantité de glucose formé
« par la méthode de G. BERTRAND. »

Nous avons substitué, au cours de ces dosages, des centrifugations à toutes les filtrations, ce qui présente le double avantage de faire gagner un temps important et d'éviter les pertes dues aux transvasements.

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau ci-après, où nous avons fait figurer également les teneurs en Zinc des gryphées appartenant aux mêmes lots.

DATE	HUITRE PESANT	GLYCOGÈNE EN GRAMMES POUR 100 GRAMMES MATIÈRE		HUITRE PESANT	ZINC EN mgr. POUR 100 gr. DE MATIÈRE	
		Fraîche	Sèche		Fraîche	Sèche
15 janv. 1930	43,98	1,822	14,529	14,3	152,23	1213,9
				21,9	87,40	696,96
29 janv. 1930	12,71	1,75	10,65	18,16	31,014	188,82
				16,8	46,62	288,44
13 fév. 1930..	17,11	2,56	31,507	17,91	27,59	339,5
				23,65	23,04	283,5
27 fév. 1930..	20,16	1,89	12,58	20,48	31,655	210,47
				16,56	49,675	330,30

Une constatation s'impose, à la lecture de ce tableau : la teneur en Zinc varie beaucoup, dans un même lot, d'un individu à un autre; d'autre part la teneur en glycogène des individus analysés est trop faible et trop peu variable pour permettre de tirer parti de la comparaison que nous avions voulu faire.

Aussi avons-nous essayé, tout d'abord, de faire disparaître l'incertitude qui existe au sujet de la teneur des gryphées à une date déterminée et dans ce but nous avons modifié notre processus opératoire, et au lieu de doser seulement sur un individu, nous avons opéré de la façon suivante: prenant quatre huitres, nous les coupons très finement en morceaux, en recueillant le liquide produit dans une petite éprouvette graduée; puis nous mélangeons intimement les morceaux dont nous faisons alors deux parts sensiblement égales; à chacune nous ajoutons

la moitié du liquide recueilli dans l'éprouvette; de la sorte, nous avons deux échantillons comparables.

Les résultats des dosages effectués sur les échantillons préparés de cette façon sont figurés dans le tableau qui suit :

DATE	POIDS DE MATIÈRE FRAÎCHE ANALYSÉE	ZINC EN MGF. POUR 100 GR. DE MATIÈRE		HUITRE PESANT	ZINC EN MGF. POUR 100 GR. DE MATIÈRE	
		Fraîche	Sèche		Fraîche	Sèche
14 mars 1930.	30,06	45,87	540,28	21,54	36,01	424,14
27 mars 1930.	34,63	58,5	553,45	18,56	86,23	815,78
10 avril 1930.	21,78	33,48	264,45	13	30,55	241,31
27 avril 1930.	16,25	37,89	278,39	11	29,27	215,06
8 mai 1930.	12,81	39,77	381,32	15,19	28,54	273,63
22 mai 1930.	26,81	27,81	445,80	13,66	30,26	485,07

Nous avons rapproché, dans ce tableau, les nombres trouvés dans les dosages faits sur une huître seulement, dans les mêmes lots; comme on peut le constater immédiatement, la variation de la teneur moyenne de quatre huîtres analysées simultanément par le moyen qui vient d'être indiqué, présente une amplitude notablement plus faible; mais le sens de la variation est le même que pour les individus pris isolément, et l'ordre de grandeur peu différent; ceci confirme la valeur des résultats trouvés dans les dosages faits sur un individu.

Afin de vérifier la valeur de notre procédé de mélange et fractionnement de la matière fraîche fournie par quatre huîtres, nous avons analysé, à diverses reprises, la seconde portion du mélange, et nous avons trouvé les résultats suivants :

DATE	PORTION	POIDS DE MATIÈRE FRAÎCHE ANALYSÉE EN GR.	ZINC EN MGF. POUR 100 GR. DE MATIÈRE	
			Fraîche	Sèche
14 mars 1930.....	1	30,06	45,87	540,28
	2	30,29	40,38	475,61
27 avril 1930.....	1	16,25	37,89	278,39
	2	14,68	36,15	265,61
8 mai 1930.....	1	12,81	39,77	381,32
	2	12,08	41,24	395,39

Ces résultats sont évidemment assez concordants, surtout les derniers, mais nous pouvons voir qu'il est pratiquement impossible de faire un dosage exact en opérant sur une fraction seulement de la matière fraîche, si bien mélangée et homogène qu'elle puisse être.

Remarquons toutefois que la précision des dosages n'aurait d'importance particulière qu'en cas de comparaison entre des teneurs très voisines, ce qui exigerait l'élimination aussi complète que possible des erreurs systématiques dues aux méthodes employées; en raison des variations considérables de la teneur en Zinc, cette question de l'exactitude des dosages est beaucoup moins importante, puisque seul le sens de la variation peut être envisagé et non la valeur absolue de la teneur indiquée par le dosage; c'est pourquoi nous avons limité généralement nos mesures à la détermination de cette teneur pour deux ou quatre individus de chaque lot que nous avons étudié.

Les résultats que nous a fournis notre travail sur la variation de la teneur en Zinc en fonction de l'époque, ne nous ayant pas permis de conclure de façon définitive en ce qui concerne le rôle de ce métal chez les gryphées, nous avons poursuivi nos recherches dans une autre voie, et nous avons analysé les divers organes et tissus de ces mollusques en les séparant très minutieusement par une dissection poussée aussi loin que possible.

Dans ce but, nous nous sommes procuré, sur le marché parisien, cinq douzaines de gryphées (vulgairement « portugaises »), qui devaient être âgées de trois ans, autant que le laissait supposer l'aspect des coquilles.

Ayant débarrassé ces huîtres de leur coquille et de leur eau d'imprégnation, nous avons pu recueillir après dissection :

Manteaux	135,2	grammes
Branchies et palpes...	127,98	—
Muscles	66,4	—
Foie	21,3	—
Intestins et estomacs..	47,62	—
Cœurs	0,80	—

Pour ces derniers, la quantité par trop minime de matière fraîche recueillie ne nous a pas permis d'effectuer de dosage, mais pour tous les autres tissus et organes, nous avons recherché le Zinc dans des échantillons pesant environ 20 grammes, prélevés sur les différentes parties fournies par la dissection et que nous venons d'indiquer.

Les résultats de ces dosages sont les suivants :

ORGANE OU TISSU	EAU %	ZINC, EN mgr., POUR 100 gr. DE		
		Matière fraîche	Matière sèche	Cendres
Manteaux	87,96	62,78	516,4	2310
Branchies, palpes.	87,34	61,65	486,9	2302
Foies	78,45	98,09	455,2	3831
Estomacs, intestins	80,60	97,59	503,0	3606
Muscles	80,30	20,40	103,5	1332

Le fait le plus saillant qui se dégage de cette comparaison, est la pauvreté relative du muscle, vis-à-vis des autres organes et tissus, dont la teneur, pour la matière fraîche, est trois et cinq fois plus grande, constatation qui rappelle et confirme celle faite par G. BERTRAND et VLADESCO, dans leur étude sur d'autres espèces; et, tout comme pour celles-ci, c'est dans le foie, avec l'estomac et les intestins — ensemble parfois désigné sous le nom de masse hépato-pancréatique — que la teneur en Zinc est particulièrement élevée.

Il est d'ailleurs à remarquer que le foie semble être, d'une façon générale, le point de concentration des métaux — en dehors des alcalins ou alcalino-terreux — décelés jusqu'à présent dans les divers tissus et organes des êtres animés; et, sans qu'on en puisse inférer une similitude de rôle, le Zinc, lui aussi, se concentre dans cet organe.

Nous avons apporté un commencement de généralisation à cette idée, dans l'étude que nous avons faite récemment sur la teneur en Zinc du corps des rats blancs (5); et nous avons de plus fait ressortir l'analogie qui existait entre le Fer et le Zinc, en étudiant dans les foies de rat comment le Zinc se comportait durant la croissance (6).

Nous avons trouvé, comme BUNGE pour le Fer, que la teneur en Zinc du foie est la plus élevée au moment de la naissance — 3 fois $1/2$ plus qu'à l'âge adulte — et diminue jusqu'à la fin de la période lactée pour devenir enfin à peu près stationnaire.

CHAPITRE IV

RECHERCHES EXPERIMENTALES ANALYTIQUES

De nombreux savants et en particulier G. BERTRAND et JAVILLIER, BENZON, VLADESCO, ont établi que le Zinc était indispensable à la vie végétale comme à la vie animale. Mais ce n'est pas suffisant, et il faudrait définir en outre quelle fonction physiologique il remplit et quel est son rôle précis.

Il est en effet des éléments comme le Fer, le Magnésium, qui jouent un rôle dans la formation des organismes, le Fer entrant dans la constitution de l'hémoglobine, le Magnésium dans celle de la chlorophylle et de la phytine (substance de réserve des graines), et M. JAVILLIER a pu dire, dans une de ses conférences, que « les organo-magnésiens et aussi les organo-zinciques, sont sans doute deux grands groupes de catalyseurs de la synthèse organique naturelle comme de la synthèse organique telle que nous la réalisons dans nos laboratoires ».

Jusqu'à présent, d'ailleurs, divers auteurs, en suivant des voies différentes, sont arrivés à des résultats concordants et à des hypothèses semblables au sujet du rôle physiologique du Zinc chez les animaux.

En particulier, le Zinc semble intervenir dans l'hydrolyse des nucléoprotéides qui accompagne les divisions cellulaires et conditionne de ce fait la croissance des tissus.

En effet, DELEZENNE a montré que le Zinc jouait le rôle de complémentaire active dans les venins de serpents, car ceux-ci agissent catalyquement sur la lécithine en donnant une hémolysine qu'avec FOURNEAU il a pu isoler et reconnaître comme étant l'anhydride de l'éther palmito-phospho-glycérique de la choline; et les venins décomposent également les acides nucléiques en acide phosphorique et nucléosides.

Dans les phénomènes de reproduction des cellules, il se produit des dédoublements semblables des lécithines et des nucléoprotéides, et il n'est pas étonnant de voir le Zinc jouer un rôle dans la croissance et le développement des plantes et des animaux, et la conclusion de DELEZENNE est qu'il semble bien exister une relation entre la présence du Zinc et celles des phosphatides et des nucléoprotéides.

G. BERTRAND et BENZON ont également émis l'idée que la vitamine B était une forme de Zinc organique, et ils ont écrit : « La vitamine B serait un élément organométallique qui devrait ses propriétés non seulement à la fraction protéidique de sa molécule, mais aussi à l'élément métallique qui lui est intimement lié et dont la nature conditionnerait la spécificité. »

De même WANG TAI SI, en déterminant la teneur en Fer, Cuivre, Manganèse, Zinc, des divers protéides du liquide coelomique des moules, émet l'opinion que : « En raison de la pluralité des protéides, on peut supposer que tel ou tel protéide a une affinité spéciale pour un métal quelconque ou pour certains métaux bien déterminés. »

D'après ces diverses hypothèses, il semble à peu près établi que le Zinc est lié très intimement à la cellule vivante et fait partie d'un ou plusieurs composés organiques dont la connaissance nous apporterait peut-être quelques éclaircissements sur le mécanisme d'action.

C'est pourquoi nous avons orienté une partie de nos recherches dans ce sens; nous avons borné notre étude aux mollusques, à cause de leur richesse particulière en Zinc, ce qui laissait supposer la présence en quantité notable de ces composés chez cette classe d'animaux.

Nous avons vu d'ailleurs, dans le rappel des travaux antérieurs, que quelques chercheurs avaient envisagé l'existence d'un protéide à fonction respiratoire, qu'ils avaient proposé d'appeler *sycotypine*, *hémosycotypine*, et, enfin, *hémozincine*.

Nos recherches préliminaires ont porté sur les mollusques suivants : moules, coques, coquilles Saint-Jacques, huîtres portugaises (gryphées) et de Marennes, tous

de provenance inconnue, ayant été achetés sur le marché parisien.

Pour donner plus de clarté à notre exposé, nous allons d'abord décrire en détail le mode opératoire employé, puis nous indiquerons ensuite les résultats obtenus avec chacune des espèces considérées.

I. — Extraction par l'eau.

La matière fraîche est jetée dans trois fois son poids d'eau distillée bouillante, dont on entretient l'ébullition pendant dix minutes environ; puis on filtre, en ayant soin de laver le filtre avec un peu d'eau distillée que l'on ajoute à l'eau de cuisson, et on concentre la solution dans le vide.

On traite le résidu par le mélange sulfo-nitrique, ainsi que la matière cuite, et on obtient ainsi, par le dosage ultérieur des solutions, la teneur en Zinc de la matière cuite d'une part, et de l'eau de cuisson d'autre part, cette dernière correspondant au Zinc soluble dans l'eau.

Ayant des doutes sur l'efficacité d'une seule opération d'extraction, comme il vient d'être décrit, nous avons repris d'une façon comparative sur des moules, une seconde extraction aqueuse, en opérant un peu différemment, de la façon suivante :

Au lieu de prendre un poids d'eau distillée bouillante égal à trois fois le poids de matière fraîche, nous en avons pris au total dix fois ce poids, en opérant avec une quantité égale successivement à cinq fois, puis deux fois et demi et à nouveau deux fois et demi le poids de matière fraîche et en faisant bouillir chaque fois pendant quinze minutes au lieu de dix; entre chacune des trois ébullitions, nous avons procédé à une filtration pour séparer la matière cuite de son eau de cuisson et à un lavage.

Nous avons fait toutes les ébullitions successives dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, afin de ne rien perdre des produits volatils susceptibles de distiller à 100°.

Ayant réuni les eaux de cuisson successives ainsi que les eaux de lavage des filtres, nous avons concentré dans

le vide pour obtenir un résidu à traiter par le mélange sulfo-nitrique, comme précédemment.

La comparaison des résultats fournis par l'extraction simple et par l'extraction en trois opérations, nous a donné, pour les moules sur lesquelles nous avons opéré, le tableau suivant :

MODE OPÉRATOIRE	ZINC TOTAL	ZINC SOLUBLE	ZINC INSOLUBLE
Extraction simple ..	3,6	2,19	1,296
Extraction triple ...	3,6	2,35	1,22

Ainsi qu'il apparaît immédiatement, presque tout le Zinc soluble se trouvait extrait par l'opération unique, et il est certain qu'en opérant en trois fois, comme nous l'avons fait, nous avons obtenu la totalité du Zinc soluble dans l'eau; aussi avons-nous employé ce procédé d'extraction pour toutes nos recherches ultérieures.

a) Fractionnement du Zinc soluble dans l'eau.

On concentre d'abord les eaux de cuisson au dixième de leur volume environ, par évaporation dans le vide, et on traite la solution concentrée par l'alcool à 96°. Il se produit un précipité renfermant une partie du Zinc qui était contenu dans la solution. Le mode opératoire est le suivant :

On ajoute d'abord un volume égal d'alcool à la solution concentrée, et on recueille le précipité par centrifugation ; c'est ce que nous désignons sous le nom de premier précipité par l'alcool.

Le liquide centrifugé est additionné d'alcool jusqu'à cessation de précipité, ce qui nécessite environ deux fois le volume d'alcool à 96°, soit une addition totale de cinq fois le volume initial en alcool à 96°. On recueille à nouveau le précipité, beaucoup moins abondant, par centrifugation : c'est le second précipité par l'alcool.

On lave l'un comme l'autre avec de l'alcool à 90°; on les sèche dans le vide sulfurique, puis on les pèse avant

d'y doser le Zinc, dont le total trouvé pour les deux précipités correspond à un ou plusieurs composés solubles dans l'eau et précipitables par l'alcool.

Le liquide résiduel de la centrifugation est concentré dans le vide, repris par une petite quantité d'eau distillée, puis évaporé à nouveau dans une capsule, et on dose le Zinc dans le résidu obtenu, ce qui permet de vérifier les résultats des dosages précédents.

II. — Extraction par l'alcool.

La matière fraîche est jetée dans cinq fois son poids d'alcool à 96° bouillant, dont on entretient l'ébullition pendant une demi-heure; puis on filtre et on recommence l'opération avec un poids d'alcool à 96°, égal à deux fois le poids de matière fraîche initialement traitée, et on fait bouillir à nouveau pendant une demi-heure; on filtre et on réunit les deux filtrats.

Comme pour les extractions aqueuses, on opère dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant.

On emploie donc, au total, sept fois le poids de la matière fraîche en alcool à 96° pour faire l'extraction; le liquide de cuisson résultant est concentré dans le vide, et on dose le Zinc dans le résidu comme d'ordinaire par traitement au mélange sulfo-nitrique : on obtient ainsi le premier extrait alcoolique.

On traite à nouveau la matière cuite de façon identique en utilisant les mêmes volumes d'alcool bouillant que pour la première extraction, et on concentre de même le liquide de cuisson, dont la dernière portion est totalement incolore, alors que les précédentes étaient colorées, ce qui indique que l'extraction est bien complète ainsi. On a de cette façon le second extrait alcoolique.

Nouveau fractionnement du Zinc soluble dans l'eau.

Lors du traitement de la matière fraîche par l'alcool bouillant, il se produit une coagulation des matières protéiques, qui, si elles contiennent du Zinc, l'immobilisent; un traitement par l'eau de la matière cuite à l'alcool ne

mettra donc en solution que le Zinc non atteint par cette coagulation. La différence entre la teneur en Zinc trouvée ainsi, et celle correspondant au Zinc soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool (2°), sera la teneur en Zinc soluble coagulable, c'est-à-dire contenu dans des substances protéiques solubles dans l'eau.

En résumé, nous arrivons, par la méthode qui vient d'être décrite, à fractionner le Zinc total de la matière fraîche en cinq parties, qui peuvent être dénommées par abréviation :

I. — *Zinc soluble dans l'eau et dans l'alcool* : celui qui reste en solution dans le traitement par l'alcool de l'extrait aqueux (2°).

II. — *Zinc soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool, non coagulable* : il entre en solution lors du traitement par l'eau de la matière cuite dans l'alcool (4°).

III. — *Zinc soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool, coagulable* : il s'obtient par différence entre le précédent et celui qui précipite dans le traitement par l'alcool de l'extrait aqueux (2°).

IV. — *Zinc insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcool* : par différence entre le Zinc soluble dans l'alcool et celui qui est à la fois soluble dans l'eau et l'alcool, déjà déterminé (2°).

V. — *Zinc insoluble à la fois dans l'eau et dans l'alcool* : il constitue le Zinc résiduel, par rapport au Zinc total, de toutes les fractions précédentes; c'est aussi la différence entre le résidu d'extraction par l'eau (1°) et le Zinc insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool (IV) ou encore la différence entre la partie insoluble dans l'eau du résidu d'extraction alcoolique (4°) et le Zinc coagulable (III).

Les résultats de ces fractionnements effectués sur la matière fraîche fournie par des moules, des coques, des

coquilles Saint-Jacques, des gryphées et des huîtres de Marennes sont consignés dans les tableaux détaillés suivants :

1° MOULES. — La matière fraîche contient 3,60 mgr. de Zinc pour 100 grammes.

EXTRACTION AQUEUSE				EXTRACTION ALCOOLIQUE			
Résidu de l'extraction aqueuse: 1,22		Extrait aqueux total : 2,35		Résidu de l'extraction alcoolique: 2,55		Extrait alcoolique total: 1,04	
Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'eau	Insolub. dans l'eau	Premier extrait	Second extrait
a) 0,91 V.	b) 0,31 IV.	c) 0,73 I.	d) 1,62	e) 0,60 II.	f) 1,95	g) 0,65	h) 0,39

Les nombres consignés dans les colonnes *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, *h*, résultent de mesures expérimentales; ceux qui figurent dans les colonnes *a* et *b* ont été obtenus à partir des autres, *a* étant la différence entre le résidu total de l'extraction aqueuse et le nombre de la colonne *b*, lui-même obtenu par différence entre les colonnes *g-h* et la colonne *c*.

2° COQUES. — La matière fraîche contient 2,88 mgr. de Zinc pour 30 grammes.

EXTRACTION ALCOOLIQUE				EXTRACTION AQUEUSE			
Résidu de l'extraction aqueuse: 1,13		Extrait aqueux total : 1,78		Résidu de l'extraction alcoolique: 2,07		Extrait alcoolique total: 0,81	
Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'eau	Insolub. dans l'eau	Premier extrait	Second extrait
a) 0,86 V.	b) 0,27 IV.	c) 0,54 I.	d) 1,23	e) 0,48 II.	f) 1,59	g) 0,52	h) 0,29

3° COQUILLES SAINT-JACQUES. — La matière fraîche contient 5,11 mgr. de Zinc pour 100 grammes.

EXTRACTION AQUEUSE				EXTRACTION ALCOOLIQUE			
Résidu de l'extraction aqueuse: 2,36		Extrait aqueux total : 2,75		Résidu de l'extraction alcoolique: 4,04		Extrait alcoolique total: 1,07	
Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'eau	Insolub. dans l'eau	Premier extrait	Second extrait
a) 1,90 V.	b) 0,46 IV.	c) 0,61 I.	d) 2,14	e) 0,48 II.	f) 3,56	g) 0,69	h) 0,38

4° GRYPHEES. — La matière fraîche contient 32,78 mgr. de Zinc pour 100 grammes.

EXTRACTION AQUEUSE				EXTRACTION ALCOOLIQUE			
Résidu de l'extraction aqueuse: 22,80		Extrait aqueux total : 10,00		Résidu de l'extraction alcoolique: 24,68		Extrait alcoolique total: 8,10	
Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'eau	Insolub. dans l'eau	Premier extrait	Second extrait
a) 17,40 V.	b) 5,40 IV.	c) 2,70 I.	d) 7,24	e) 0,97 II.	f) 23,71	g) 5,92	h) 2,18

5° HUITRES DE MARENNES. — La matière fraîche contient 30,85 mgr. de Zinc pour 100 grammes.

EXTRACTION AQUEUSE				EXTRACTION ALCOOLIQUE			
Résidu de l'extraction aqueuse: 20,10		Extrait aqueux total : 10,67		Résidu de l'extraction alcoolique: 23,34		Extrait alcoolique total: 7,91	
Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Soluble dans l'alcool	Insolub. dans l'alcool	Soluble dans l'eau	Insolub. dans l'eau	Premier extrait	Second extrait
a) 14,39 V.	b) 5,71 IV.	c) 2,10 I.	d) 8,56	e) 0,62 II.	f) 22,72	g) 5,68	h) 2,23

Une première constatation s'impose : tandis que les moules, les coques et les coquilles Saint-Jacques, contiennent environ 3 à 5 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche, les huîtres, au con-

traire, portugaises ou de Marennes, en contiennent environ 30 milligrammes.

La comparaison des nombres figurant dans les tableaux précédents, ainsi que ceux qu'on en peut déduire : — mesure du Zinc coagulable, par différence entre les nombres des colonnes *d* et *e*, pourcentage de Zinc précipitable par l'alcool dans l'extrait aqueux, par rapport entre les nombres des colonnes *d* et *c* — est particulièrement intéressante, comme le montre le tableau récapitulatif de la page ci-contre.

Les nombres en italique indiquent le pourcentage de la fraction considérée par rapport au Zinc total de la matière fraîche. Les résultats se comparent beaucoup mieux sous cette forme, et l'on peut voir par exemple que la répartition du Zinc est pour ainsi dire identique dans les moules et dans les coques; de même les huîtres, portugaises ou de Marennes, ont une grande similitude de répartition, qui diffère notablement de la précédente, principalement pour le résidu totalement insoluble, et aussi pour la fraction non coagulable, beaucoup plus faible : la coquille Saint-Jacques occupe une place intermédiaire entre les deux groupes précédents, comme elle s'y plaçait déjà par sa teneur en Zinc.

Par contre, la fraction soluble dans l'alcool, un peu plus faible pour les huîtres, reste d'un même ordre de grandeur, et est sensiblement le quart du Zinc total.

La fraction soluble dans l'eau est environ deux fois plus importante dans les moules et les coques que dans les huîtres, mais la partie de cette fraction qui est précipitée par l'alcool, qui, en valeur absolue, est aussi la moitié dans le cas des huîtres, garde pour les cinq mollusques considérés un rapport qui est environ de $\frac{3}{4}$ (voir les nombres qui figurent à la dernière ligne du tableau général).

On remarque que ce sont les gryphées qui présentent la plus importante fraction à la fois insoluble dans l'eau et dans l'alcool (V), fraction qui contient vraisemblablement la majeure partie des matières protéiques, le reste se trouvant dans la fraction coagulable (III) du Zinc soluble dans l'eau; le total de ces deux fractions protéi-

NATURE DE LA FRACTION		MOU
1	Zinc total de la matière fraîche.....	3,60
2	Zinc soluble dans l'alcool et insoluble dans l'eau (IV) (Colonne <i>b</i>)	8,7
3	Extrait alcoolique total (Colonnes <i>g</i> et <i>h</i>)—	1,04 29
4	Zinc soluble à la fois dans l'eau et dans l'alcool (I) (Colonne <i>c</i>) —.....	20,3
5	Extrait aqueux total (Colonnes <i>c</i> et <i>d</i>)....	2,35 65,1
6	Extrait aqueux insoluble dans l'alcool (Colonne <i>d</i>).....	1,62 44,8
7	Zinc soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, non coagulable (II) (Colonne <i>e</i>).....	16,7
8	Zinc soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, coagulable (III) Colonnes <i>d-e</i>).....	28,1
9	Résidu d'extraction alcoolique insoluble dans l'eau (Colonne <i>f</i>).....	1,93 54,3
10	Zinc insoluble à la fois dans l'eau et dans l'alcool (V) (Colonne <i>a</i>)	25,3
11	Total des fractions I, II, III, IV, V....	
12	Proportion de l'extrait aqueux insoluble dans l'alcool	68,7

RAI

COQUES	COQUILLES SAINT-JACQUES	GRYPHÉES	HUITRES DE MARENNES
	5,11	32,78	30,85
0,27 4 %	0,46 9,0 %	5,40 16,5 %	5,71 18,6 %
8,2 %	1,07 20,9 %	8,10 24,8 %	7,81 25,4 %
0,54 8,8 %	0,61 11,9 %	2,70 8,3 %	2,10 6,8 %
1,5 %	2,75 53,8 %	9,94 30,3 %	10,66 % 34,6 %
2,7 %	2,14 41,9 %	7,24 22,0 %	8,56 27,8 %
0,48 3,7 %	0,48 9,4 %	0,97 2,9 %	0,62 2,0 %
0,75 6,0 %	1,66 32,5 %	6,27 19,1 %	7,94 18,6 %
5,1 %	3,56 69,7 %	23,71 72,3 %	22,72 72,6 %
0,86 9,9 %	1,90 37,2 %	17,40 53,2 %	14,39 46,9 %
2,90	5,11	32,74	30,76
9,3 %	78,0 %	72,8 %	80,1 %

diques est d'ailleurs presque aussi élevé pour les huîtres de Marennes et les coquilles Saint-Jacques, et, par contre, plus faible, de façon comparable, pour les moules comme pour les coques.

C'est pourquoi nous avons poursuivi nos recherches sur ces mollusques, qui présentent en outre l'avantage d'avoir une teneur en Zinc beaucoup plus élevée que celle des coquilles Saint-Jacques, et sensiblement plus importante que celle des huîtres de Marennes, comme il résulte des recherches relatées au chapitre précédent, et des travaux des divers auteurs cités.

Nous avons procédé à l'étude des diverses fractions obtenues par la méthode de subdivision de la matière fraîche qui vient d'être indiquée, et nous avons analysé ainsi successivement l'extrait aqueux, son résidu, l'extrait alcoolique et le résidu de cette extraction, en utilisant divers réactifs spécifiques comme la digestion peptique ou la dialyse. (Voir tableau ci-dessus).

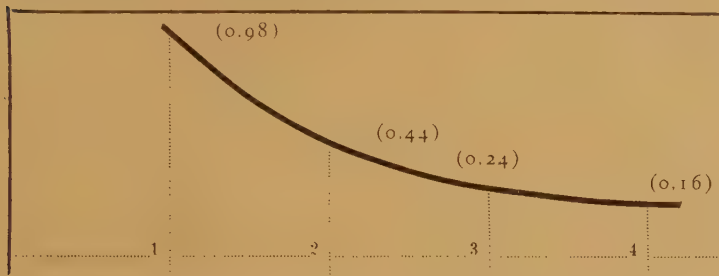
III. — Etude de l'extrait aqueux.

Cette fraction contient d'une part le Zinc minéral, d'autre part certains éléments organiques éventuellement protéiques; si l'on fait une dialyse de la solution, on séparera ces éléments.

Nous avons donc soumis l'extrait aqueux des gryphées contenant 42,36 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche, à une dialyse à travers des sacs de collodion plongeant dans de l'eau bidistillée; l'expérience a duré douze jours pendant lesquels nous avons remplacé l'eau distillée tous les trois jours pour y faire le dosage du Zinc dialysé: les résultats de ces dosages figurent dans le tableau ci-après :

1 ^{re} dialyse 3 jours	2 ^e dialyse 4 à 6 ^e jour	3 ^e dialyse 7 à 9 ^e jour	4 ^e dialyse 10 à 12 ^e jour
11,14	0,446	0,243	0,162
Extrait aqueux total : 11,96.			

La totalité du Zinc contenu dans l'extrait aqueux est donc dialysable, mais on remarque l'importance de la première fraction dialysée, et, en traçant la courbe de dialyse d'après les résultats des trois derniers dosages, on trouve que la valeur approximative du Zinc de même nature dialysé pour le premier, est de 0,98, ce qui donne pour le reste, qui doit représenter la partie minérale, une quantité de 10,16 milligrammes, soit 24 % du Zinc total.



IV. — Etude du résidu d'extraction aqueuse.

Ce résidu est la matière cuite dans l'eau, et il représente, si nous nous reportons au tableau général, l'ensemble des matières dont la teneur en Zinc est indiquée dans les colonnes *a* et *b*, c'est-à-dire, d'une part la matière insoluble à la fois dans l'eau et dans l'alcool (colonne *a*) et d'autre part la matière insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool (colonne *b*).

La première partie, avons-nous dit, doit représenter les matières protéiques, ou du moins la majeure partie de ces matières, et il semble particulièrement indiqué de faire subir une digestion pepsique à ce résidu, pour solubiliser précisément ces substances sous forme de protéoses.

On sait en effet que les matières protéiques les plus complexes, sous l'influence de la pepsique gastrique, subissent une hydrolyse qui les transforme en protéoses, c'est-à-dire en un mélange de peptones et d'albumoses qui sont solubles dans l'eau.

Nous avons donc traité le résidu d'extraction aqueuse des gryphées contenant 42,36 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche par la pepsine gastrique

en milieu chlorhydrique, dans les proportions et conditions indiquées par le Codex : 0,10 gramme de pepsine à 100 % pour 2,50 grammes de matière fraîche, en milieu acidifié à 2 0/00 d'acide chlorhydrique.

Pour faciliter la digestion du résidu, nous l'avions préalablement haché finement avec un hache-viande en nickel, et avant l'addition de la pepsine à la solution chlorhydrique, nous avons amené la température de cette dernière à 50°, ce qui est la température optimale pour l'action de la pepsine.

Après une digestion de six heures, nous avons filtré à la trompe, puis nous avons dosé le Zinc dans une fraction connue du liquide, et dans une fraction connue du résidu non digéré, ce dernier devant contenir les glucides, les lipides, et certains protéides comme les mucines, les mucoïdes et les protamines, dont l'ensemble est désigné sous le nom de plastéines.

Les dosages ont donné les résultats suivants :

RÉSULTATS EN MMGR. DE ZN

<i>Résidu d'extraction aqueuse</i> : 30,4 mgr. (74,2 %)	
Liquide de digestion : 23,34	Résidu de digestion : 6,80
soit 57,3 %.	soit 16,1 %

Mais le résidu n'ayant pas l'air homogène, nous avons été amenée à penser que la digestion n'avait pas été complète, et nous avons repris un nouveau traitement par la pepsine, après avoir haché à nouveau le résidu, car, comme on le sait, l'état de division de la matière soumise à la digestion est très important, et il influe tellement qu'un dosage peut être complètement faussé, si l'on n'a pas pris la précaution de diviser suffisamment la matière à traiter.

D'autre part, on sait que, parmi les matières protéiques, certaines sont plus difficilement attaquables par la pepsine; ainsi la caséine est très facilement attaquable; la fibrine, au contraire, l'est beaucoup moins.

Après filtration du liquide de digestion, nous y avons dosé le Zinc et en avons trouvé 6,24 milligrammes, soit, aux erreurs d'expériences près, la totalité qui avait résisté à la première digestion.

Il en résulte donc que tout le Zinc de la partie insoluble dans l'eau se trouve dans les produits hydrolysés par la pepsine.

Ce résultat doit nous surprendre, car, ainsi que nous l'avons précisé, une fraction du résidu de l'extraction aqueuse représente la matière insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool, et cette fraction ne devrait donc pas subir d'hydrolyse par la pepsine, puisque les protéides sont normalement insolubles dans l'alcool; d'autre part, il est à remarquer que le résidu de la première digestion correspond très sensiblement à cette fraction (16,1 % du Zinc total pour le résidu, alors que le tableau général indique 16,5 % pour le Zinc insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool).

Nous devons donc supposer que ce premier résidu représente des matières protéiques difficilement hydrolysables par la pepsine, et solubles dans l'alcool; ceci nous amène à rappeler l'hypothèse qu'émet M. MACHEBŒUF dans son travail sur les lipides, stérols, protéides du sérum et du plasma sanguins.

« Dans la substance extraite du sérum et du plasma, « l'albumine, les phospholipides, les stérides, ne sont pas « à l'état de liberté, mais unis par des liaisons physiques « ou chimiques, liaisons assez fortes pour modifier profondément les propriétés physiques des divers constituants, mais pas assez puissantes cependant pour résister à l'action d'agents énergiques (tels que l'alcool « bouillant) qui peuvent séparer les constituants ».

Dans le cas actuel, nous devons nous trouver en présence d'une matière complexe analogue, associant des protéides soit à des lipides, comme celle qui existe dans le sang, soit à tout autre matière organique, et soluble de ce fait dans l'alcool. Cette substance, qui a résisté à la première digestion, a été décomposée par la seconde, ce qui a restitué leurs propriétés normales à ses constituants.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons effectué quelques essais particuliers sur le résidu d'extraction aqueuse, dont nous indiquons ci-après le détail.

1° Vérification de l'existence dans le résidu d'extraction aqueuse d'une fraction soluble dans l'alcool.

A cet effet, nous avons fait subir au résidu d'extraction aqueuse un épuisement par l'alcool, ce qui nous a donné une solution dont la coloration témoignait de la dissolution d'une substance organique, qui contient du Zinc, comme le montre l'analyse.

2° Vérification de la possibilité d'hydrolyser cette substance par une action prolongée de la pepsine gastrique.

Après concentration dans le vide de la solution alcoolique, nous avons fait subir à l'extract sec une digestion pepsique pendant huit heures; ayant filtré le liquide de digestion, nous y avons dosé le Zinc et nous en avons trouvé 5,46 milligrammes, soit 16,7 % du Zinc total (les huitres étudiées contenaient 32,78 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche).

On peut remarquer la concordance vraiment extraordinaire de ces nombres avec ceux du tableau général, qui sont de 5,40 milligrammes et 16,5 %; cette concordance dépasse la précision des mesures, car le dosage a été fait sur une très petite quantité de matière, et il n'est exact qu'à 6 % près.

Néanmoins, nous pouvons considérer ces résultats comme une vérification suffisante de notre hypothèse sur l'existence de complexes entraînant certains protéides en solution dans l'alcool.

Ce premier point acquis, nous avons repris l'étude des liquides de digestion et nous les avons soumis à la dialyse à travers des sacs de collodion. Nous avons préalablement concentré dans le vide les liquides à étudier pour ramener leur volume à celui contenu dans un ou deux sacs, et nous avons ajouté quelques gouttes de chloropicrine pour éviter la fermentation.

Comme pour toutes les dialyses que nous avons faites au cours de notre travail, nous avons remplacé l'eau bi-distillée tous les trois jours, en y dosant chaque fois le Zinc dialysé.

Les résultats de ces dosages sont consignés dans le tableau ci-contre.

LIQUIDE ÉTUDIÉ	PREMIÈRE DIGESTION	DEUXIÈME DIGESTION
1 ^{re} dialyse	16,85	4,94
2 ^e dialyse	0,89	0,65
3 ^e dialyse	0,49	»
4 ^e dialyse	0,40	»
Total dialysé	18,63	5,59
Zinc total	23,34	6,24

Nous constatons que le premier liquide de digestion présente un résidu encore notable au bout de douze jours, avec une vitesse de dialyse relativement faible, tandis qu'une partie importante du Zinc (68,7 %) se trouve dans le premier dosage, qui correspond à trois jours de dialyse.

Pour le second, au contraire, la dialyse est beaucoup plus rapide, et, au bout de six jours, le Zinc est presque entièrement dialysé; la majeure partie (79,8 %) étant déjà dans le dialysat des trois premiers jours.

On sait que, parmi les protéoses, les albumoses dialysent plus rapidement que les peptoses, et il nous semble donc que le Zinc doit être plus particulièrement un constituant des premiers.

V. — Etude de l'extrait alcoolique.

Cette fraction contient, si nous nous reportons au tableau général, d'une part, la partie à la fois soluble dans l'eau et dans l'alcool (I, colonne c), et d'autre part la partie soluble seulement dans l'alcool (IV, colonne b).

Une dialyse de la solution obtenue en reprenant par l'eau le résidu de la dessiccation dans le vide de la solution alcoolique, séparera immédiatement ces deux parties, et leur importance relative, comparée aux nombres du tableau général, indiquera facilement si cette séparation est effectivement obtenue.

Nous préparons la liqueur alcoolique en faisant subir à la matière fraîche des extractions à l'alcool comme nous l'avons indiqué précédemment; mais, au lieu de faire simplement deux opérations, nous en faisons trois pour

être absolument sûre de tout solubiliser. Nous concentrons dans le vide les liquides alcooliques ainsi obtenus, nous faisons la dialyse du résidu sec repris par l'eau, et nous prélevons les liquides de dialyse tous les trois jours.

La teneur en Zinc de ces différents liquides, pour des huitres contenant 67,92 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche, est indiquée dans le tableau suivant :

EXTRAIT ALCOOLIQUE : 15,24 mgr.		
1 ^{re} dialyse	2 ^e dialyse	3 ^e dialyse
4,10	0,58	0,15

Nous voyons qu'il y a 7,2 % du Zinc dans la fraction dialysable; remarquons toutefois que l'extrait alcoolique ne représente que 22,6 % au lieu de 24,8, comme il est indiqué dans le tableau général, et que la fraction dialysable de l'extrait alcoolique représente donc très sensiblement la totalité du Zinc soluble à la fois dans l'eau et dans l'alcool (1), puisque, si nous tenons compte de cette différence d'extrait alcoolique, nous avons l'équivalent de 8,1 %, bien peu différent des 8,3 qui figurent dans le tableau général.

La fraction non dialysable contient des graisses en émulsion dans l'eau; et il est très difficile d'en faire la séparation, car elles bouchent les filtres, et la centrifugation les fait remonter à la surface.

Aussi, pour séparer ces matières grasses, avons-nous distillé dans le vide le liquide contenu dans les sacs de collodion, et nous avons repris le résidu sec par l'éther. Nous avons filtré cette solution en lavant soigneusement le filtre à l'éther. La plus grande partie du résidu sec est ainsi passée en solution.

Nous avons donc fractionné le liquide non dialysable en :

a) Une fraction soluble dans l'éther, contenant les lipides, et dans laquelle nous avons trouvé par dosage, après distillation de l'éther, 0,798 milligramme de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche, soit 1,18 % du Zinc total :

b) Une fraction insoluble dans l'éther, contenant 0,725 milligramme de Zinc, soit 1,07 % du Zinc total.

Mais ces résultats n'indiquent qu'un ordre de grandeur, car il y a eu des pertes au cours des manipulations, et, entre autres, les sacs de collodion ont retenu une certaine quantité de matière, comme nous avons pu le déterminer en les brûlant et en dosant les cendres, qui contenaient 0,182 milligramme de Zinc, soit 0,25 % appartenant à l'une ou l'autre fraction, ou même aux deux.

Nous avons donc repris cette étude de l'extrait alcoolique, en opérant un peu différemment.

Comme précédemment, nous épuisons la matière fraîche par l'alcool bouillant à trois reprises, puis nous distillons dans le vide les liquides alcooliques réunis, et, pour éviter les pertes dues aux reprises par l'eau, nous reprenons le résidu sec par un mélange d'eau et d'éther, et nous évaporons le liquide dans une petite fiole.

Nous obtenons ainsi l'extrait alcoolique sec, qui doit contenir les lipoides. Nous le reprenons par l'eau, et nous séparons par filtration sur papier mouillé la partie soluble de celle insoluble, cette dernière se présentant sur le filtre sous forme de grumeaux.

Nous traitons ce résidu par l'éther, qui en dissout une partie.

Nous avons donc trois fractions distinctes, dont la première, soluble dans l'eau, est soumise à une dialyse dans des sacs de collodion avec quelques gouttes de chloropicrine, et nous prélevons les eaux de dialyse tous les trois jours.

Nous avons effectué le dosage du Zinc dans les différentes parties obtenues au cours de ce fractionnement, en joignant les sacs en collodion à la fraction non dialysable, addition non négligeable, puisqu'elle représentait, pour les huitres considérées, contenant 44,96 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche, une quantité de 0,586 mgr. de Zn.

Nous avons, d'autre part, recherché la nature du Zinc contenu dans les eaux de dialyse; pour cela, le liquide de

dialysé, très coloré en jaune comme l'était d'ailleurs la solution aqueuse, est concentré dans le vide, son résidu, repris par un peu d'eau, est séché dans le vide sulfurique, et nous obtenons une substance cristallisée à odeur d'extrait de viande, représentant dans notre expérience 3,46 % de la matière fraîche. Sa solution aqueuse est acide au tournesol, probablement à cause des acides gras qu'elle contient et qui résultent d'une alcoololyse des lipides.

Dans la solution de cette substance cristallisée, nous avons pu précipiter directement le Zinc en milieu citrique, par un courant d'hydrogène sulfuré, en ayant préalablement éliminé le Cuivre par le même traitement en milieu acide chlorhydrique. Nous avons ainsi trouvé 0,725 milligramme de Zinc, soit 1,6 % de Zinc à l'état minéral dans l'extrait alcoolique.

Les résultats de tous les dosages de Zinc, faits sur les diverses fractions, sont consignés dans le tableau suivant : qui se rapporte à des huitres ayant une teneur de 44,96 milligrammes de Zinc pour 100 grammes de matière fraîche :

Extrait alcoolique 7,16 (16,0 %)	Insoluble dans l'eau : 1,973 (4,4 %)	Insoluble dans l'éther.... 0,853 (1,9 %)			
		Soluble dans l'éther 1,12 (2,5 %)			
	Soluble dans l'eau : 5,119 (11,4 %)	Non dialysable 1,55 (3,4 %)			
		Dialysable 3,57 (8,0 %)			
		Zinc minéral	Zinc organique	1 ^{re} dialyse	2 ^e dialyse
		0,725 (1,6 %)	2,845 (6,4 %)	2,72	0,85

Afin de pouvoir étudier d'une façon plus complète les différentes fractions que nous venons d'indiquer, nous avons repris sur une quantité beaucoup plus importante de matière fraîche (1.061 grammes), leur séparation progressive, en suivant, cette fois encore, une méthode légèrement différente.

La concentration au vingtième de son volume initial du liquide d'extraction alcoolique résultant de trois épuisements successifs, provoque une précipitation partielle d'une substance de faible densité, qui reste en suspension même après une centrifugation prolongée, et qui est séparée du liquide par filtration sur papier mouillé.

La centrifugation du précipité filtré, remis en suspension dans l'eau, fournit un culot lécithineux, une couche grasseuse superficielle et un liquide trouble blanc jaunâtre, qui est séparé par filtration sur le même filtre que précédemment, ce qui donne un filtrat huileux.

L'opération est répétée une seconde fois sur le culot lécithineux remis à nouveau en suspension dans l'eau.

La concentration ultérieure du liquide alcoolique qui présente une coloration jaune ambré, provoque une nouvelle précipitation semblable à la précédente, mais la concentration est poursuivie, après addition des filtrats et eaux de lavage précédemment obtenus, de façon à éliminer totalement l'alcool.

La solution aqueuse, filtrée sur papier mouillé, donne un filtrat brun opaque, légèrement visqueux, qui cristallise par concentration dans le vide, en donnant un mélange de cristaux dont la majeure partie est constituée par du chlorure de sodium.

La purification de cette masse cristalline est obtenue en faisant une extraction à l'éther sur sa solution hydroalcoolique sur laquelle surnage une couche grasseuse qui est ainsi éliminée.

La fraction insoluble dans l'éther, mais soluble dans l'alcool et l'eau, se dépose par évaporation de la solution, sous forme d'aiguilles fines mélangées de cristaux cubiques de chlorure de sodium.

La fraction soluble dans l'éther est jointe aux solutions d'extraction par l'éther des culots lécithineux et des résidus laissés sur les filtres par les suspensions aqueuses successives, ce qui donne une solution verdâtre et un résidu cristallisé qui est joint au précédent extrait.

Il est à remarquer que l'extraction par l'éther ne laisse qu'un résidu très faible : environ 4 % de l'extrait cristallin, ce qui représente l'entraînement par les matières grasses qui sont seules à précipiter au début de la concentration du liquide d'extraction alcoolique.

La distillation de la solution éthérée laisse un résidu de matières grasses qui représente 1,4 % de la matière fraîche, et qui contient 0,416 milligramme de Zinc, soit seulement 0,9 % du Zinc total, bien que la teneur rapportée à 100 grammes de matière grasse, soit de 29,15 milligrammes.

a) Etude particulière de la fraction insoluble dans l'éther.

Après avoir fractionné comme il vient d'être dit l'extrait alcoolique, nous avons étudié plus particulièrement, en raison de son importance, la fraction insoluble dans l'éther, qui se présente sous l'aspect de fines aiguilles cristallines, et qui pesait, pour les 1.061 grammes de matière fraîche traitée, 38,7 grammes, soit 3,6 %.

1° Extraction par l'alcool à 96°

Nous avons d'abord traité la fraction insoluble dans l'éther par de l'alcool à 96° B^é en chauffant au bain-marie entre 50 et 60°. Il se produit une coloration de l'alcool qui indique la dissolution d'une partie de la matière traitée, et, en ajoutant par 100 cc. à la fois l'alcool jusqu'à non coloration, nous avons trouvé qu'il fallait au total 700 cc. d'alcool, auxquels nous avons ajouté 50 cc. avec lesquels nous avons effectué un dernier traitement pour être sûre de dissoudre complètement la substance soluble.

Par évaporation de cette solution alcoolique, nous avons recueilli 11,9 grammes de substance, soit un peu moins du tiers de la fraction traitée.

2° Extraction par une liqueur hydro-alcoolique

Le résidu de la première extraction, qui pèse 24,65 grammes, se présente sous forme d'une masse dure, que nous désagrégeons par contact pendant douze heures avec 15 cc. d'eau, ce qui semble séparer les cristaux. L'addition de 15 cc. d'alcool, qui surnage tout d'abord, ne paraît pas agir beaucoup sur le résidu, mais avec l'évaporation progressive au contact de l'air, le degré alcoolique diminue, et il arrive un moment où la surface de séparation entre la solution aqueuse et l'alcool, jusque-là bien nette, disparaît, et nous constatons, par la perte de poids de l'ensemble, que l'alcool subsiste seulement dans la proportion de 21 % environ. Il faut 45 cc. de ce mélange pour dissoudre tout le résidu, et le dosage du Zinc dans celui-ci indique une teneur de 37,3 milligrammes qui précipitent directement par un traitement à l'acide sulfhydrique en liqueur citrique, et qui sont par conséquent à l'état minéral.

Les résultats de ces différents dosages sont consignés dans le tableau suivant, où les nombres entre parenthèses se rapportent au pourcentage de la fraction considérée par rapport au Zinc total existant dans les huîtres étudiées :

Extrait alcoolique 53,85 gr. Zn: 101 mgr. (21,4 %)	Fraction soluble dans l'éther..... 0,416 (0,9 %) 15,15 gr. Zn: 4,42 mgr. 0,029 %.		
	Fraction insoluble dans l'éther 38,7 gr. Zn: 96,5 mgr. (20,4 %)	Soluble dans l'alcool à 96°.. 8,25 (18,4 %) 11,9 gr. Zn: 83 mgr. 0,69 %.	
		Soluble dans l'alcool à 21 % Zn: 9,2 mgr.	Zinc organique. 0,605 (1,3 %) 6,16 mgr. 0,026 %.
			Zinc minéral .. 0,310 (0,7 %) 3,04 mgr. 0,011 %.

La constatation la plus immédiate qui découle de l'examen de ce tableau est la suivante : la presque totalité du Zinc contenu dans l'extrait alcoolique se trouve dans la fraction de ce dernier qui, soluble dans l'alcool à 96° est insoluble dans l'éther. Nous nous proposons de revenir ultérieurement sur ce point.

VI. — Etude du résidu d'extraction alcoolique.

Cette fraction doit contenir toutes les matières protéiques, à l'exception toutefois de celles qui auraient pu être solubilisées dans l'alcool par suite de leur association avec des lipides ou autres composés organiques, et qui auraient résisté au traitement par l'alcool bouillant.

On sait que la solubilité des protéides diffère légèrement suivant leur nature et que, si certains sont solubles dans l'eau pure, d'autres exigent la présence de sels neutres en petite quantité, ou une légère alcalinité dont la neutralisation par un acide faible provoque leur précipitation, ou exigent au contraire une faible acidité.

Nous avons donc traité le résidu d'extraction alcoolique successivement par l'eau distillée, par le chlorure de sodium à 1 % et enfin par la soude à 1 %. Pour ce dernier traitement, il y a lieu de veiller particulièrement à ce que l'alcalinité ne soit pas trop forte, car il se produit facilement une hydrolyse des matières protéiques en présence de la soude.

Première expérience

Nous avons tout d'abord broyé finement dans un mortier de porcelaine le résidu sec des extractions alcooliques, et nous avons effectué un dosage du Zinc sur la poudre ainsi obtenue. La teneur en était de 470 milligrammes pour 100 grammes de poudre, ce qui correspondait à 52 milligrammes pour 100 grammes de matières fraîches.

a) **Extraction par l'eau pure.**

Ce traitement doit dissoudre le glycogène qu'il sera facile d'éliminer ultérieurement, et les albumines dans lesquelles nous doserons le Zinc.

Nous avons pris 10 grammes de poudre et nous les avons mis dans un ballon avec 150 cc. d'eau distillée froide, additionnée de quelques gouttes de chloropierine pour éviter toute fermentation.

Nous agitons modérément et au bout d'une heure de contact, nous obtenons une solution très opalescente (en raison du glycogène dissous) que nous séparons, par filtration, du résidu solide.

Nous recommençons cette opération à plusieurs reprises, en opérant chaque fois avec 50 cc. d'eau distillée froide, de façon à obtenir au total 300 cc. de solution.

Nous précipitons tout le glycogène par addition de deux volumes d'alcool à 96°; il se forme un abondant précipité floconneux blanc, que nous séparons par centrifugation, puis que nous lavons à l'alcool et séchons dans le vide sulfurique. Nous obtenons ainsi 1,223 grammes de glycogène sec, soit 12,23 % de la poudre traitée.

Le dosage du Zinc révèle un léger entraînement au cours de cette séparation (1,22 milligramme, soit 1 % du glycogène).

La solution hydro-alcoolique est concentrée dans le vide et le résidu sec attaqué par le mélange sulfo-nitrique pour faire le dosage du Zinc (4,46 milligrammes).

b) Extraction par le chlorure de sodium à 1 %.

Ce traitement doit dissoudre en particulier les globulines dans lesquelles nous ferons comme précédemment un dosage du Zinc.

L'extraction a été faite en agitant la poudre ayant subi le traitement à l'eau froide avec 50 cc. d'eau salée à 1 %, l'opération étant poursuivie pendant une heure, et répétée à plusieurs reprises en renouvelant chaque fois les 50 cc. d'eau salée.

Les liquides d'extraction, obtenus par filtration à la trompe après chaque opération, sont réunis, et donnent 300 cc. de liqueur salée qui est concentrée dans le vide jusqu'à siccité.

Le dosage du Zinc dans le résidu sec, après une attaque sulfo-nitrique qui est particulièrement rapide, indique 5,6 milligrammes de Zinc.

c) Extraction par la soude à 1 %

Ce dernier traitement doit dissoudre les protéïdes qui ont résisté aux traitements précédents. L'extraction se fait donc sur la poudre ayant subi les opérations qui viennent d'être décrites.

On commence par agiter cette poudre avec 100 cc. de Soude à 1 %, ce qui lui donne un aspect gélatineux et la colore en brun.

On filtre à la trompe, opération qui se fait très lentement, puis on neutralise le filtrat, fortement coloré en brun, par de l'acide acétique en dépassant même légèrement la neutralisation (indiquée par le tournesol), ce qui provoque la formation d'un précipité verdâtre peu abondant de nature protéique.

Ces opérations sont répétées jusqu'à absence complète de précipité acétique dans le filtrat, ce qui nécessite au total 600 cc. de soude à 1 %.

En centrifugeant les liquides d'extraction réunis, on obtient la totalité du précipité acétique qui est mis à dessécher dans le vide sulfurique; on recueille ainsi 0,029 gramme de précipité sec qui doit être constitué par des mucinés, des mucoïdes, des protamines et des gluco-protéïdes, et qui renferme 0,81 milligramme de Zinc, soit 2,8 % du précipité.

Le liquide centrifugé est un peu opalescent et jaune; en l'additionnant de deux fois son volume d'alcool à 96°, on obtient un abondant précipité verdâtre que l'on centrifuge et dessèche dans le vide sulfurique. On obtient 1,94 gramme de résidu sec, qui contient 12,76 milligrammes de Zinc, soit 0,66 % du précipité.

Le liquide alcoolique, distillé dans le vide, laisse un résidu sec pesant 11,97 grammes, ce qui représente d'une part la soude utilisée pour les extractions, et que nous retrouvons sous forme d'acétate de sodium hydraté cristallisé $\text{CH}_3\text{CO}^-\text{Na}^+\text{aq.}$, soit 6,11 grammes et, d'autre part

la matière organique dissoute, soit 5,86 grammes, dans lesquels le dosage donne 8,023 milligrammes de Zinc, soit 0,138 % de la matière organique.

L'ensemble de ces résultats est condensé dans le tableau suivant dans lequel les nombres placés entre parenthèses indiquent le pourcentage du Zinc de la fraction considérée par rapport au Zinc total.

10 grammes de résidu d'extraction alcoolique Zn: 47 mgr.	Extraction par l'eau	Glycogène	1,22	(2,6 %)
		Eaux-mères	4,46	(9,5 %)
	Extraction par le NaCl à 1 %		5,60	(12 %)
	Extraction par la Soude à 1 %	Précipité par l'acide acétiq.	0,81	(1,7 %)
		Précipité par l'alcool à 96°.	12,76	(27,2 %)
		Résidu alcoolique	8,02	(17,2 %)
	Résidu des extractions précédentes...		10,31	(21,5 %)

Le précipité obtenu lors de l'addition d'alcool doit être formé par des histones et des nucléoprotéides.

Le résidu alcoolique doit contenir les prolamines et les peptones.

La poudre qui a subi toutes les extractions a un aspect gélatineux et elle doit contenir, en effet, les scléroprotéides, c'est-à-dire les substances collagènes (gélatine) et les squelettines.

Il est possible que le Zinc puisse être décelé dans deux parties seulement, l'extrait au chlorure de Sodium se présentant avec un aspect légèrement opalescent qui laisse supposer une extraction incomplète par l'eau, et le Zinc qu'y indique le dosage pouvant venir de ce traitement insuffisant. Il y a donc lieu de reprendre l'extraction aqueuse sur une nouvelle quantité de poudre, en veillant à ce que le traitement soit prolongé suffisamment pour dissoudre sûrement tout ce qui est soluble dans l'eau.

Deuxième expérience

Afin d'assurer une meilleure extraction, nous avons d'autre part broyé à nouveau la poudre, jusqu'à complet passage à travers un tamis de soie N° 50.

En traitant ainsi 11 grammes de poudre, nous avons obtenu à travers le tamis 10,96 grammes seulement, en raison des pertes inhérentes à cette manipulation, ce qui correspond à 51,51 mgr. de Zinc et à 98,33 grammes de matière fraîche.

a) Extraction par l'eau

Nous utilisons cette fois une agitation mécanique, et nous prolongeons chaque opération pendant trois heures, en employant chaque fois 100 cc. d'eau froide. Nous filtrons à la trompe après chaque opération pour récupérer la poudre non dissoute.

Nous avons poursuivi le traitement même après obtention de liqueur limpide pour être sûre de tout dissoudre, et nous avons employé au total 2.100 cc. d'eau.

Nous ramenons d'abord au dixième environ du volume par évaporation dans le vide, puis nous traitons par deux fois le volume d'alcool à 96°, ce qui précipite le glycogène et entraîne un peu d'une autre substance organique, car le précipité est légèrement coloré en brun.

Nous purifions ce précipité par dissolution dans l'eau chaude et reprécipitation par l'alcool, opération répétée à plusieurs reprises, ce qui donne finalement un résidu blanc de glycogène pesant 1,5 gramme et contenant 1,5 milligramme de Zinc, soit 0,1 % du glycogène.

Les eaux-mères hydro-alcooliques réunies sont concentrées dans le vide, ce qui laisse un résidu sec contenant 6,97 milligrammes de Zinc.

b) Extraction par le chlorure de sodium à 1 %

Nous utilisons ici encore l'agitation mécanique, en filtrant comme précédemment à la trompe après chaque opération pour séparer la poudre non dissoute du filtrat.

Nous vérifions le degré d'extraction obtenu en faisant un essai sur 1/2 cc. de filtrat, qui, chauffé à sec, laisse un dépôt qui, noir au début des extractions, se décolore peu à peu, et finit par rester blanc quand le filtrat ne contient plus de matières organiques. Nous avons ainsi trouvé nécessaire d'employer 500 cc. de liquide en douze extractions de trois heures chacune.

Les filtrats réunis sont concentrés dans le vide jusqu'à siccité, puis traités par le mélange sulfo-nitrique qui n'agit que lentement, et nous trouvons au dosage 6,1 milligrammes de Zinc.

c) Extraction à la soude à 1 %

Nous utilisons toujours l'agitation mécanique et la filtration à la trompe, en prélevant dans chaque filtrat quelques centimètres cubes sur lesquels nous essayons la précipitation par acidification acétique. Les derniers liquides filtrés ne donnent plus aucun précipité.

Ceci nous a obligé à utiliser 600 cc. de soude à 1 % en six opérations. Dans ce liquide, l'acide acétique, ajouté jusqu'à légère réaction acide au tournesol, donne un précipité, qui, recueilli après centrifugation, pèse sec 0,131 gramme et contient 1,54 milligramme de Zinc, soit 1,18 %.

L'addition de deux volumes d'alcool à 96° au liquide résiduel provoque un abondant précipité verdâtre qui pèse 1,21 gramme et qui contient 12,15 milligrammes de Zinc, soit 1 %.

Il est à noter que ce précipité contient également une quantité notable de cuivre.

Le résidu fournit par l'évaporation dans le vide de la solution restante, pèse sec 13,08 grammes dont 6,11 grammes de $C^2H^3O_2Na$, qui contient 9,72 milligrammes de Zinc, soit 0,14 % de la matière organique.

L'ensemble de ces résultats est condensé dans le tableau suivant, que l'on pourra utilement rapprocher du

précédent, et dans lequel les nombres placés entre parenthèses indiquent le pourcentage du Zinc de la fraction considérée rapporté au Zinc total.

10,96 grammes de résidu d'extraction alcoolique contenant 51,51 mgr. de zinc	Extraction par l'eau.	Glycogène	1,5	(2,9 %)
		Eaux-mères	6,97	(13,5 %)
	Extraction par le NaCl à 1 %		6,1	(11,8 %)
	Extraction par la soude à 1 %	Précipité par l'acide acétiq.	1,54	(3 %)
		Précipité par l'alcool à 96°	12,15	(23,6 %)
		Résidu alcoolique	9,73	(18,9 %)
	Résidu des extractions précédentes		9,4	(18,3 %)

Nous pouvons remarquer que l'extrait obtenu dans le traitement par le Chlorure de Sodium à 1 % est de même importance que précédemment, mais que, par contre, comme nous pouvions le prévoir, l'extraction par l'eau a été plus complète, et qu'au total le résidu des trois extractions successives a légèrement diminué.

La seconde fois comme la première, c'est dans le précipité alcoolique de l'extrait sodique que nous trouvons la fraction la plus importante du Zinc — environ le quart — cet extrait contenant lui-même près de la moitié du Zinc total de la poudre.

Mais, cette répartition est sujette à caution, car nous n'avons effectué la neutralisation acétique de la liqueur sodique qu'après avoir terminé l'extraction, et il est possible que les matières organiques dissoutes laissées de ce fait en présence de la Soude aient subi une hydrolyse partielle qui modifie l'importance du précipité acétique.

Ce point demande une vérification que nous avons effectuée en reprenant l'expérience suivant le même processus, sauf en ce qui concerne la neutralisation de la liqueur sodique que nous avons traitée au fur et à mesure de son obtention par l'acide acétique.

Troisième expérience

a) Nous avons donc repris 20 grammes de poudre passée au tamis N° 50, et nous en avons tout d'abord extrait 1,2 gramme de glycogène et 4,27 grammes de résidu dans les eaux-mères; ce résidu était brun comme du caramel, très dur, mais il prenait une consistance visqueuse lorsqu'il était mis dans l'eau.

b) Le traitement par le *Chlorure de Sodium* à 1 % nous a donné 28 grammes d'extrait contenant 2 grammes de matière organique.

c) Comme précédemment nous avons fait l'extraction par la *Soude* à 1 % en agitant mécaniquement, mais nous avons centrifugé après chaque extraction partielle, afin d'éviter une hydrolyse possible pendant la filtration, procédé employé dans les précédentes expériences et qui, bien que faite à la trompe, est néanmoins fort longue.

Chaque liquide centrifugé est aussitôt neutralisé par l'acide acétique, et nous obtenons finalement 0,43 gramme de précipité acétique, 3,66 grammes de précipité alcoolique et 21,85 grammes de résidu alcoolique contenant 11,2 grammes d'acétate de Sodium et, par conséquent 10,65 grammes de matière organique; enfin il reste un résidu insoluble pesant 4,17 grammes sec.

Nous pouvons remarquer que nous trouvons au total 26,38 grammes de matière organique, soit 6,38 grammes de plus que le poids de poudre utilisé pour cette expérience, ce qui indique qu'une hydrolyse s'est certainement produite sur certaines combinaisons qui se sont subdivisées ou modifiées en fixant de l'eau.

Les résultats des dosages effectués sur les diverses fractions isolées comme il vient d'être indiqué, sont consignés dans le tableau suivant pour lequel nous avons adopté une disposition un peu différente en établissant l'équivalent des nombres obtenus, pour une quantité de poudre supposée égale à 100 grammes; ceci pour donner un élément de comparaison. Nous avons, en outre, indi-

qué le pourcentage du Zinc trouvé au dosage par rapport à la quantité de substance isolée le contenant.

FRACTIONS ISOLEES		20 grammes de poudre		100 grammes de poudre		Pourcentage du zinc dosé rapporté à	
		Substance isolée	Zinc dosé en	Substance calculée	Zinc calculé	Substance isolée	Zinc total
		gr.	mgr.	gr.	mgr.		
Extraction par l'eau	Glycogène...	1,2	2,74	6,0	13,7	0,23	2,91
	Eaux-mères	4,27	12,70	21,35	63,6	0,29	13,60
Extract. p ^r NaCl à 1 %		2,0	11,13	10,0	55,65	0,55	11,90
Extraction par NaOH à 1 %	Précipité acétique...	0,43	1,70	2,15	8,50	0,39	1,81
	Précipité alcoolique.	3,66	30,96	18,32	154,8	0,84	33,0
	Résidu al- coolique...	10,65	6,0	53,25	30,0	0,56	6,40
Résidu insoluble		4,17	24,73	20,85	123,65	0,59	26,30

Nous pouvons remarquer que les trois premières fractions sont absolument identiques à celles que nous avons trouvées lors de la précédente expérience; par contre, l'extrait sodique a légèrement diminué, mais il donne un précipité alcoolique plus important qui contient le tiers du Zinc de la poudre.

Quatrième expérience

. Afin de pouvoir étudier plus particulièrement cette fraction riche en Zinc, nous avons repris les mêmes extractions sur une quantité de poudre beaucoup plus importante, obtenue à partir de 2.400 grammes de gryphées qui, séchées à l'étuve à 35° après les trois extractions alcooliques, ont donné 150 grammes de poudre.

Le dosage du Zinc, effectué sur deux grammes de poudre, nous a indiqué une teneur de 4,7 milligrammes par gramme.

a) Extraction aqueuse

Les 148 grammes de poudre restant ont été traités en totalité suivant le processus déjà décrit, l'extraction aqueuse ayant été cependant faite de façon plus complète en raison du volume de matière à traiter qui a obligé à prolonger l'opération pendant 576 heures en utilisant 17.400 cc. d'eau distillée par 700 cc. à la fois.

Les derniers liquides d'extraction n'étaient plus du tout opalescents, mais légèrement troubles; ils ne donnaient aucune coloration avec l'iode et ne contenaient donc plus de glycogène; il est d'ailleurs probable que le trouble constaté provenait de la présence de parcelles en suspension dans le liquide, étant donné l'extrême finesse à laquelle nous avons préalablement amené la poudre en vue de faciliter les extractions.

Nous avons réuni les liqueurs obtenues successivement à la centrifugation et nous avons concentré dans le vide jusqu'à réduction à un volume de 2.400 centimètres cubes seulement.

En ajoutant alors 4.800 cc. d'alcool à 96°, nous'avons obtenu un précipité blanc floconneux très abondant de glycogène, impur toutefois, car après centrifugation, le séchage dans le vide sulfurique altérerait sa couleur qui devenait brune, et il prenait un aspect corné.

Purification du précipité par l'alcool.

Il y a donc lieu de procéder à une purification de ce précipité et à une séparation de ses éléments, opération à laquelle nous avons aussitôt procédé.

Nous avons dissous le précipité dans 1.000 cc. d'eau tiède, ce qui a laissé un résidu brunâtre insoluble dans l'eau, comme nous avons pu le vérifier en le reprenant, après décantation, par 700 cc. d'eau chaude, qui furent sans effet apparent, et que nous avons ajoutés aux 1.000 cc. d'eau initialement employés.

L'addition de deux volumes, soit 3.400 cc. d'alcool à 96° reprécipite le glycogène, encore un peu mêlé de quelques impuretés, que nous séparons par deux nouveaux traitements identiques, ce qui nous donne en définitive 11,67 grammes de glycogène bien blanc, et contenant seulement 5,267 milligrammes de Zinc, soit 0,046 % en poids de substance isolée, et 0,75 % du Zinc total; et, d'autre part, 6,9 grammes de résidu brunâtre, insoluble dans l'eau, et dans lequel un dosage effectué sur la moitié indique pour le Zinc la teneur extraordinaire de 3,77 % en poids, soit, dans cette fraction 260 milligrammes représentant 37,5 % du Zinc total.

L'évaporation dans le vide des liqueurs hydro-alcooliques ayant précipité le glycogène, donne un résidu un peu cristallin, de couleur brune, très dur et ayant une odeur d'extrait de viande.

Ce résidu des eaux-mères du glycogène, pèse 38,33 grammes, et il contient 0,057 % en poids de Zinc, ce qui représente 3,15 % du Zinc total de la poudre.

b) Extraction par ClNa à 1 %

Cette dernière, ayant subi l'extraction aqueuse comme il vient d'être dit, est soumise à l'action d'une liqueur saline à 1 % de NaCl, dans deux tubes de verre de 500 cc. agités mécaniquement comme pour les expériences précédentes.

Nous prolongeons l'extraction jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de résidu brun lors de l'évaporation dans un tube à essai de 1 à 2 cc. de liqueur centrifugée, ce qui nous oblige à employer 11.200 cc. de solution saline, en seize fois, l'opération ayant duré au total 480 heures.

Nous évaporons dans le vide les liqueurs réunies, puis desséchons le résidu obtenu dans le vide sulfurique, ce qui nous donne 125,75 grammes de substance sur lesquels il y a 112 grammes de NaCl; nous obtenons donc 13,75 grammes de substance organique qui contient 81,04 milligrammes de Zinc, soit 11,7 % du Zinc total.

c) Extraction par NaOH à 1%

Nous traitons ensuite la poudre restante par la soude à 1 %, en centrifugeant le plus souvent possible pour séparer les liqueurs sodiques qui sont aussitôt neutralisées par l'acide acétique pour éviter autant que possible l'hydrolyse des matières organiques sous l'action de la soude.

Nous poursuivons l'opération jusqu'à disparition complète de précipité lors de la neutralisation, ce qui demande 10.000 cc. de liqueur sodique et représente 216 heures de traitement.

Nous centrifugeons et séchons les précipités acétiques qui sont verdâtres et laissent un résidu sec pesant 52,2 grammes et contenant 47 milligrammes de Zinc, soit une teneur de 0,09 % et 6,77 % du Zinc total.

Les liquides recueillis lors de la centrifugation précédente sont additionnés d'alcool, après concentration à 1.500 cc. La précipitation s'arrête lorsque le degré alcoolique atteint 75° B^e, ce qui correspond à l'addition de 4.850 cc. d'alcool à 96°.

Après une centrifugation et un séchage dans le vide sulfurique, nous recueillons 13,64 grammes d'un précipité vert brun, contenant 51,57 milligrammes de Zinc, soit 0,38 % en poids et 7,4 % du Zinc total.

Le liquide alcoolique à 75° présente une coloration jaune pâle et laisse après concentration dans le vide un résidu pesant sec 116 grammes et contenant 101,8 grammes d'acétate de Sodium, soit par conséquent 14,2 grammes de matière organique, qui contient 130 milligrammes de Zinc, ce qui représente une teneur de 0,92 % et 18,7 % du Zinc total.

Enfin la poudre qui a résisté aux traitements précédents pèse encore 28,42 grammes et renferme 61,6 milligrammes de Zinc, soit une teneur de 0,216 % et 8,85 % du Zinc total; il est à noter que le dosage du Zinc nous a fait constater la présence d'une quantité notable de Fer.

Nous trouvons donc au total 179,11 grammes de matière organique pour 148 grammes de poudre traitée, soit 31 grammes provenant de l'hydrolyse, quantité moins importante cependant que dans la précédente expérience où nous avons trouvé une augmentation de 32 % contre 17,5 seulement ici.

Les divers résultats que nous venons d'indiquer sont consignés dans le tableau suivant, établi sur le même plan que le dernier et permettant de comparer facilement les résultats.

FRACTIONS ISOLÉES		148 grammes de poudre		100 grammes de poudre		Pourcentage du zinc rapporté à	
		Substance isolée gr.	Zinc dosé en mgr.	Substance calculée gr.	Zinc calculé mgr.	Substance isolée	Zinc total
Extraction par l'eau	(Glycogène...	11,67	5,27	7,19	3,56	0,046	0,75
	Résidu.....	6,90	260,54	4,66	175,0	3,77	37,5
	Eaux-mères	38,33	21,88	25,89	14,78	0,057	3,15
Extract. p ^r NaCl à 1 %		13,75	81,04	9,3	54,75	0,59	11,7
Extraction par NaOH à 1 %	Précipité acétique...	52,2	47,0	34,25	31,08	0,09	6,77
	Précipité alcoolique.	13,64	51,57	9,21	34,84	0,38	7,4
	Résidu al- coolique...	14,2	130,0	9,6	87,83	0,92	18,7
Résidu insoluble		28,42	61,6	19,22	41,62	0,216	8,85

Ce qui doit attirer notre attention dans ce tableau, c'est la séparation qui apparaît pour la première fois dans cette expérience, d'une substance particulièrement riche en Zinc, puisqu'elle en contient 3,77 % en poids.

Il est d'ailleurs à remarquer que cette substance, primitivement soluble dans l'eau, devient complètement in-

soluble après alcoolisation de la liqueur, ce qui indique une transformation au cours de ce traitement, et peut expliquer une partie de l'augmentation de poids de substance organique isolée dans les diverses fractions que nous avons indiquées, par rapport au poids de poudre d'huîtres traité.

Cette teneur particulièrement élevée nous a incité à rechercher la composition élémentaire de cette fraction, qui se présente sous la forme d'une poudre grisâtre et renferme, comme nous l'avons constaté au cours du dosage du Zinc, de nombreux métaux.

VII. — Etude particulière du résidu d'extraction

du glycogène

Nous avons déterminé tout d'abord la teneur en cendres, selon la méthode indiquée au début de ce travail, et nous avons trouvé que ce résidu renfermait 56 % de cendres dont 2,07 soluble dans l'eau.

Un dosage par micro-Kjeldahl donne 4,62 % d'Azote, et la recherche du Soufre suivant la méthode préconisée par G. BERTRAND et L. SILBERSTEIN (55) en décelé 1,4 %. Nous employons également la méthode indiquée par ces auteurs pour la recherche du Phosphore (56) ce qui nous donne 6,1 %.

La quantité de Soufre ainsi trouvée est notablement supérieure à celle qui permettrait d'introduire dans une formule organique la quantité d'Azote décelée, et il faut supposer que ce soufre est partiellement à l'état minéral.

Cette supposition se confirme si l'on considère que la quantité d'eau utilisée pour l'extraction aqueuse (17.400 cc.) pourrait dissoudre près de 35 grammes de sulfate de Calcium, que la teneur en alcool réalisée lors de la séparation du glycogène permettrait de précipiter presque en totalité, et que nous avons trouvé une teneur de 56 % pour les cendres.

Pour vérifier ce point, nous avons recherché le Soufre dans la solution obtenue avec une petite fraction du

résidu traitée par l'acide chlorhydrique très étendu. Nous avons, en outre, recherché le Calcium dans cette même solution que nous avons partagée en deux parties à cet effet.

La précipitation par l'oxalate d'Ammonium donne 13,57 % de Calcium, et le dosage du Soufre 1,42 %, soit la totalité du Soufre présent dans le résidu, qui est entièrement à l'état minéral.

Cette quantité importante de Calcium nous a amené à rechercher si le Phosphore ne serait pas aussi à l'état minéral sous forme de phosphate de Calcium de solubilité comparable à celle du sulfate.

Pour cela, nous avons dissous une petite fraction de résidu dans l'acide chlorhydrique dilué. Il n'est pas possible de doser le Phosphore par la méthode à l'Urane, en raison de la quantité de Fer présente, et nous avons employé la précipitation par le molybdate d'Ammonium et la transformation ultérieure pour peser en pyrophosphate de magnésium.

Nous trouvons de cette façon 6 % de Phosphore, ce qui indique que ce métalloïde est lui aussi à l'état minéral sous forme de $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$.

Nous pouvons vérifier d'ailleurs que le calcium est entièrement sous les deux formes que nous venons de rechercher, comme le montrent les poids correspondant aux formules et quantités de Soufre et Phosphore.

Nous avons, en effet, 6 de Phosphore, qui correspondent à 30 de Phosphate et à 11,6 de Calcium, et 1,4 de Soufre qui correspond à 4,63 de Sulfate et à 1,75 de Calcium, soit au total 13,55 de Calcium.

Ce premier point établi, nous avons procédé successivement à la recherche et au dosage, s'il y avait lieu, du Silicium, du Magnésium, du Cuivre et du Manganèse, ce dernier en raison des teneurs relativement élevées trouvées pour les deux précédents.

Nous dosons le Silicium dans les cendres, sous forme de silice SiO_2 insolubilisée par l'acide chlorhydrique et nous trouvons ainsi 5,75 % de Silice.

La solution chlorhydrique donne avec l'ammoniaque et un peu de phosphate de sodium un abondant précipité de phosphate, dont une partie se dissout dans l'acide acétique, ce qui sépare le Calcium et le Magnésium qui se trouvent à nouveau en solution.

On précipite par l'oxalate d'Ammonium tout le Calcium que l'on sépare du Magnésium, légèrement soluble, par un lavage poursuivi jusqu'à disparition de toute trace d'oxalate dans l'eau, ce que nous vérifions au moyen du permanganate.

Le magnésium est précipité, à son tour, à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien après séparation par l'acide sulfhydrique des traces de Cuivre et de Zinc, puis pesé sous forme de pyrophosphate après calcination du précipité. On trouve 1,9 % de Magnésium.

Le dosage colorimétrique du Cuivre, préalablement séparé à l'état de sulfure, indique 5,08 % de ce métal.

Pour le Manganèse, nous utilisons également une méthode colorimétrique indiquée par G. BERTRAND (4) et nous trouvons 0,05 % de Manganèse.

Ces divers résultats sont condensés dans le tableau suivant, qui montre bien que nous avons déterminé dans les dosages précédents la presque totalité des cendres.

Soufre	1,4	soit	Sulfate de Calcium.	4,36
Phosphore	6,1	—	Phosph. de Calcium.	30,00
Calcium	13,57	—	Chaux non comprise	
			dans les sels pré-	
			cédents	0,31
Silicium	2,7	—	Silice	5,75
Magnésium	1,9	—	Magnésie	5,15
Cuivre	5,08	—	Oxyde de Cuivre...	6,37
Zinc	3,77	—	Oxyde de Zinc.....	4,7
Manganèse	0,05	—	Ox. de Manganèse.	0,08
TOTAL				54,72

L'examen de ces résultats montre que ce résidu est principalement constitué par la plus grande partie des substances minérales que renferment les huitres dans leur

constitution normale, et selon toute vraisemblance ces substances devaient se trouver partagées, dans les expériences précédentes entre les eaux-mères du glycogène et le précipité alcoolique de l'extrait par la soude.

Il est probable que la solubilisation de ces substances dans la dernière expérience provient de deux causes principales : d'une part, la finesse particulièrement grande de la poudre traitée; d'autre part, la durée notablement plus longue des extractions effectuées sur cette poudre.

Il est également possible que ce résidu, peu important en poids puisqu'il ne représente seulement que 4,65 % de la poudre, ait pu passer inaperçu dans les expériences faites sur de petites quantités de poudre suivant un processus dont la durée réduite devait diminuer encore ce pourcentage, et que, de ce fait, la fraction obtenue se soit trouvée comptée dans les eaux-mères du glycogène, celle non extraite se retrouvant ultérieurement dans le précipité alcoolique.

Quelles que soient d'ailleurs les causes de cette anomalie apparente, cette fraction minérale des huîtres ne semble pas devoir présenter d'intérêt au point de vue fonctionnel, contrairement à ce que nous avons pensé lors de sa séparation.

CONCLUSIONS

Au cours des recherches que nous venons de relater dans les pages qui précèdent, nous avons tout d'abord retrouvé les conclusions des travaux de G. BERTRAND et VLADESCO, sur la teneur en Zinc des différents organes et tissus des gryphées, et la richesse exceptionnelle du foie de ces mollusques relativement aux autres organes.

Il semble également que le Zinc puisse jouer un rôle dans le phénomène de la reproduction, dans cette espèce animale comme chez les poissons, mais malgré nos recherches à ce sujet, il nous est impossible de prouver ce fait d'une manière certaine, en raison de la difficulté que nous avons éprouvée à éliminer complètement les facteurs indépendants.

La seule constatation importante qu'il nous soit possible de formuler au sujet des expériences analytiques que nous avons effectuées dans la première partie de nos recherches est que, au cours du fractionnement chimique opéré sur les huîtres, nous avons toujours trouvé du Zinc, et ce métal y existait en proportions à peu près constantes.

Nous rappelons ces fractions :

- 1° Zinc soluble dans l'eau et l'alcool : environ 8 %;
- 2° Zinc soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et non coagulable : 3 %;
- 3° Zinc soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et coagulable: 19 %;
- 4° Zinc insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool : 17 %;

5° Zinc insoluble dans l'eau et dans l'alcool : 53 %.

De ceci, il nous est possible de déduire que le Zinc existe sous forme de plusieurs combinaisons nettement différentes, et dans lesquelles il doit être lié intimement à des molécules organiques.

D'ailleurs, la majeure partie du Zinc, c'est-à-dire celle que contient la fraction insoluble dans l'eau et qui représente 70 % du total, se trouve lié à des substances protéïdiques, puisque nous le retrouvons dans les produits de la décomposition par la pepsine gastrique.

La fraction extraite par l'alcool partage le Zinc qu'elle contient — environ 25 % du total — entre des graisses, des substances solubles dans l'alcool à 21°, et d'autres insolubles et qui en contiennent d'ailleurs la plus grande partie.

Le résidu de l'extraction alcoolique se fractionne en substances solubles dans l'eau, dans le NaCl à 1 %, dans la Soude à 1 %, et en substances insolubles dans ces divers solvants, ceci en proportions sensiblement constantes quant à la teneur en Zinc.

Ce fractionnement fournit, entre autres, une substance que l'analyse nous montre comme très chargée en sels minéraux, et qui contient 28 % du Zinc total, ce qui représente 3,77 % de son poids.

La plupart des autres fractions présentent également des teneurs en Zinc assez notables, comme l'extrait salin obtenu avec le NaCl à 1 %, qui contient 0,59 % de son poids de Zinc; l'extrait sodique précipitable par l'alcool, qui en contient 0,38 %, ou l'extrait sodique non précipitable, qui en renferme 0,92 %.

La majeure partie de ces substances possède des caractères protéïdiques indéniables, et il est à peu près certain que le Zinc qu'elles renferment fait partie de leur molécule, dans laquelle il doit entrer à l'état de composé organo-métallique.

Il eût été très intéressant de déterminer la formule brute de ces composés, mais nous n'avons pu, malheureusement les isoler complètement au cours de nos recherches jusqu'à ce jour, où il nous faut les interrompre, et nous espérons que notre modeste contribution à cette étude permettra à notre défaut sa continuation par d'autres chercheurs.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRAUN et BELLINGRODT. — Ueber das Vorkommen von Zink im Pflanzenreich (Poggendorfs Annalen, t. 92, p. 175, 1854).
2. BERTRAND (G.) — Sur les zincates alcalino-terreux (C. R. Ac. Sc., t. 115, p. 539, 1892).
3. BERTRAND (G.). — De l'importance des infiniments petits dans l'alimentation. (Bull. Soc. Sc. d'Hyg. alimentaire, t. 38, 1920).
4. BERTRAND (G.). — Méthode de dosage du Mn (Bull. Soc. Ch., t. 9, 4^e sér., p. 361, 1911).
5. BERTRAND (G.) et M^{lle} BEAUZEMONT (Y.) — Sur la variation de la teneur en zinc des animaux avec l'âge : influence du régime lacté (C. R. Ac. Sc., t. 190, p. 1089, 1930).
6. BERTRAND (G.) et M^{me} BRANDT-BEAUZEMONT (Y.). — Sur la teneur en zinc du foie chez le rat en voie de croissance (C. R. Ac. Sc., t. 191, p. 1410, 1930).
7. BERTRAND (G.) et BENZON. — De l'importance du zinc dans l'alimentation (C. R. Ac. Sc., t. 175, p. 289, 1922).
8. BENZON. — Thèse de Paris 1923.
9. BENZON. — Sur la teneur en zinc des principaux aliments d'origine végétale (Ann. Institut Pasteur, t. 18, p. 386, 1929).
10. BERTRAND (G.) et JAVILLIER. (M.) — Sur une méthode expérimentale sensible de précipitation du zinc (Bull. Soc. Ch., 1906, sér. 4, p. 63).
11. BERTRAND (G.) et JAVILLIER (M.). — Recherche sur la présence et le rôle du zinc chez les végétaux (Bull. Soc. Ch., t. 3, 4^e sér., p. 115, 1908).
12. BERTRAND (G.) et MOKRAGNATZ. — Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de Cu, Zn, Ni, CO. (Bull. Soc. Ch., t. 33, sér. 4, p. 1539, 1923).

13. BERTRAND (G.) et NAKAMURA. — Sur l'importance comparative du Fer et du Zinc (C. R. Ac. Sc., t. 179, p. 129, 1924).
14. BERTRAND (G.) et VLADESCO. — De la répartition du zinc dans l'organisme du cheval (C. R. Ac. Sc., t. 171, p. 1016, 1920).
- 14a BERTRAND (G.) et VLADESCO. — Sur les causes de variation de la teneur en zinc des animaux vertébrés. Influence de l'âge (C. R. Ac. Sc., t. 172, p. 698, 1921).
15. BERTRAND (G.) et VLADESCO. — Sur l'intervention probable du zinc dans les phénomènes de fécondation chez les animaux vertébrés (Bull. Soc. Ch., t. 31, p. 790, 1922).
16. BERTRAND (G.) et VLADESCO. — Sur la teneur en zinc du lapin et de quelques vertébrés (Bull. Soc. Ch., t. 31, p. 268, 1922).
17. BERTRAND et VLADESCO. — Sur la teneur en zinc du corps de certains organes des invertébrés (Bull. Soc. Ch., t. 33, p. 341, 1923).
18. BIRKNER. — The zinc content of some food products (Jour. biol. chem., t. 38, p. 171, 1919).
19. BODANSKY. — Biochemical study on marin organisms. The occurrence of zinc (Journ. biol. Chem., t. 44, p. 399, 1920).
20. BODANSKY. — Répartition du zinc dans l'organisme du poisson (C. R. Ac. Sc., t. 173, p. 790, 1921).
21. BRADLEY. — The occurrence of Zn in certain invertebrates. (Sciences, t. 19, p. 1906, 1904).
22. BUNGE. — Cours de Chimie biologique, Masson, édit. Paris 1891, p. 94.
23. CHIGLIOTTO. — L'existence du Zn dans l'organisme humain (Ann. Fals. et fraudes, 123-124, 1919).
24. CRISTOL. — Zinc et cancer (C. R. Ac. Sc., t. 174, p. 887, 1922).
25. CRISTOL. — Etat actuel de nos connaissances sur la physiopathologie du Zinc (Progrès médical, n° 16, 1927).
26. CRISTOL et DERRIEN. — Zincoporphinurie (C. R. Soc. biol. t. 103, p. 126, 1930).

27. DELEZENNE. — Le zinc constituant cellulaire de l'organisme animal. Sa présence et son rôle dans le venin du serpent (Ann. Inst. Pasteur, t. 33, p. 68, 1919).
28. DRINKER, FEHNELL et MARION MARSH. — The normal excretion of zinc in the urine and feces of man (J. biol.Chem., t. 72, p. 375, 1927).
29. FAIRHALL. — The nutritive value of inorganic substances. A study of the normal Zinc metabolism with particular reference to the calcium metabolism (J. biol. Chem., t. 70, 1926).
30. GIAYA (S.) — Le zinc dans l'organisme humain (C. R. Ac. Sc., t. 170, p. 906, 1920).
31. GRACANIN. — Contribution à l'étude du zinc dans la biochimie des plantes (Biochem. Zeit., Bd. 194, p. 216, 1928).
32. Mc HARGUE. — Mn et Zn are factors in metabolism animal (Am. J. Physiol., t. 70, p. 245, 1926).
33. Mc. HARGUE. — The occurrence of Cu-Mn-Zn-Ni-Co in soils plants and animals, and their possible functions as vital factors (J. agric. Research., t. 30, p. 193, 1925).
34. HAUROWITZ (F.) et TURNWALD (H.). — Sur les métaux lourds du foie humain et sur leur mise en évidence spectrographique (Extr. du Bull. Soc. Ch., sér. 4, t. 48, p. 435, 1930).
35. HILTNER et WICHMANN. — Zn in oysters (Bull. Sc. Ch., t. 38, p. 205, 1919).
36. HUBBEL et MENDEL. — Zn dans nutrition normale (Bull. Soc. Ch., t. 44, sér. 4, p. 906, 1928).
37. HUBBEL et MENDEL. — Zn in normal nutrition (J. Biol. Ch., t. 75, p. 567, 1927).
38. LECHARTIER et BELLAMY. — Sur la présence du zinc dans les corps des animaux et dans les végétaux (C. R. Ac. Sc., t. 84, p. 687, 1877).
39. LUTZ. — The normal occurrence of zinc in biological materials. A reviews of the litterature and a study of the normal distribution of Zn in rat, cat and man (J. Ind. Hyg., t. 8, p. 177, 1926).
40. MAZE. — Influences respectives des éléments de la solution minérale sur le développement du maïs (Ann. Inst. Pasteur, t. 28, p. 21, 1914).

41. MENDEL et BRADLEY. — The inorganic constitution of liver of sycotypus (Am. J. Physiol., t. 14, p. 313, 1905).
42. MENDEL et BRADLEY. — (Am. J. Physiol., 1907, p. 167.)
43. PFLUGER et NERKIG. — Nouvelle méthode de dosage du glycogène. Pflüger's Archiv., t. 53, p. 491, ; t. 55, p. 394 ; t. 76, p. 531 ; t. 90, p. 523. Ou Soc. Ch. de France, t. 24, p. 32, 1903).
44. PHILIPPS. — The result of an analytic research for metals in Tortugas marine organism (Paper from the department of marine biology of the Carnegia Institution of Washington-Publication 251, 1917).
45. RAOULT et BRETON. — Sur la présence ordinaire du Cu et du Zn dans le corps humain (C. R. Ac. Sc., t. 135, p. 40, 1877).
46. RAULIN. — Etude chimique sur les végétaux (Thèse Doct. Sc. Phys., Paris 1870).
47. Von MAX ROBERG. — Ueber die Wirkung von Eisen, Zink und Kupfersalzen auf Aspergillus (Centralbl. f. Bakt., Paras. u. Infek 2^e Abt., 1928, p. 333, t. 74).
48. ROBERT (M^{lle}). — Recherches sur le rôle physiologique du calcium chez les végétaux (Thèse Sc., Paris 1915).
49. MARY S. ROSE. — What place have Al, Cu, Mn and Zn in normal nutrition (J. Nutrition, t. 1, p. 541, 1929).
50. ROST. — Das Zink von physiologischen und toxicologischen Stand punkt (Berichte d. Pharm. Ges., t. 29, 1919).
51. ROST und WEITZEL. — Zur Kenntnis des Vorkommens von Zink und Kupfer in den Ausscheidungen und Organmengen des Menschen und in unsern Lebensmitteln (Arb. aus d. Reichsgesundheits, t. 51, 1919).
52. SALE. — Zn et Mn dans les huîtres de Chesapeake Bay, 1915.
53. SEVERY. — The occurrence of copper and zinc in certain marine animals (J. Biol. Chem., t. 55, p. 79, 1923).
54. SOMMER, A.-L. — Further evidence of essential nature of Zn for the growth of higher green plants (Chemical Abstr., v. 23, p. 414, 1929).
55. SILBERSTEIN (L.). — Contribution à l'étude du soufre dans le sol et chez les végétaux (Thèse, Paris 1928).
56. SILBERSTEIN (L.). — Sur le dosage du Soufre et du Phosphore dans les plantes (C. R. Ac. Sc., t. 189, p. 886).

57. WEITZEL. — (D'après Zentr. Physiol., 28, 1914, p. 766.) Le Zn dans les fèces et urines de l'homme.
58. WEITZEL. — Beiträge zur Bestimmung von Zink in organischen Stoffen, Kot, Lebensmitteln u. s. Nebst Bemerkungen über den Zinkgehalt (Arb. aus d. Reichsgesundheitsamte, 51, 1919).
59. WANG TAI SI. — Recherches sur le Cu, le Fe, le Mn et le Zn dans les mollusques (Thèse, Paris 1928).
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
--------------------	---

PREMIERE PARTIE

GÉNÉRALITÉS

CHAPITRE PREMIER. — <i>Historique</i>	9
a) Le Zn dans les végétaux	9
b) Le Zn dans les animaux	10
c) Le Zn dans les mollusques	11
e) Rôle du Zn chez les végétaux	12
f) Rôle du Zn chez les animaux	13
g) Rôle du Zn chez les mollusques	15
CHAPITRE II. — <i>Méthode et orientation de nos recherches personnelles</i>	16

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE III. — Recherches expérimentales synthé- tiques	19
CHAPITRE IV. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES ANALY- TIQUES	27
I. Extraction par l'eau	29
a) Fractionnement du Zn soluble dans l'eau ..	30
II. Extraction par l'alcool	31
III. Etude de l'extrait aqueux	38
IV. Etude du résidu d'extraction aqueuse	39

V. Etude de l'extrait alcoolique.....	43
a) Etude particulière de la fraction insoluble dans l'éther	48
VI. Etude du résidu d'extraction alcoolique.....	50
a) Extraction par l'eau pure.....	59
b) Extraction par ClNa à 1%.....	60
c) Extraction par NaOH à 1 %	61
VII. Etude particulière du résidu d'extraction du glycogène	63
CONCLUSIONS	67
BIBLIOGRAPHIE	70

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LA RÉFRACTION MOLÉCULAIRE

Vu et approuvé

Paris, le 29 Mai 1931

Le Doyen de la Faculté des Sciences

MAURAIN

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

CHARLETY

